



TUGAS AKHIR - SB141510

MODIFIKASI ENZIMATIK LIMBAH BULU AYAM SEBAGAI PAKAN TERNAK KAYA NUTRISI

**DITYA LARASATI
1511 100 046**

**Dosen Pembimbing
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - SB141510

ENZYMATIC MODIFICATION OF CHICKEN FEATHERS WASTE AS LIVESTOCK FEED RICH IN NUTRIENTS

**DITYA LARASATI
1511 100 046**

**Advisor Lecturer
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT.**

**Biology Department
Mathematic and Natural Science Faculty
Sepuluh Nopember Institute of Technology
Surabaya 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

MODIFIKASI ENZIMATIK LIMBAH BULU AYAM SEBAGAI PAKAN TERNAK KAYA NUTRISI

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Sains pada Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

DITYA LARASATI
NRP. 1511 100 046

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T.....(Pembimbing)

Surabaya, 29 Juli 2015

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. rer. nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si
NIP. 19690907 199803 2 001

MODIFIKASI ENZIMATIK LIMBAH BULU AYAM SEBAGAI PAKAN TERNAK KAYA NUTRISI

Nama Mahasiswa : Ditya Larasati
NRP : 1511 100 046
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. techn. Endry Nugroho P, MT.

Abtrak

Bulu merupakan limbah organik terdiri atas 90% keratin yaitu protein berstruktur α -heliks (α -keratin) atau β -sheet (β -keratin) dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen. Ikatan dan struktur keratin membuat limbah bulu sukar didegradasi. Meski demikian, bulu unggas dapat didegradasi dengan menggunakan metode mekanis, kimia, dan biologi. Kekurangan dari metode mekanis dan kimia adalah membutuhkan input energi yang besar, menimbulkan masalah lingkungan, dan merusak asam-asam amino tertentu sehingga kualitas dan pencernaan protein menurun.

Solusi alternatif dan inovatif untuk mengatasi limbah bulu unggas yang melimpah adalah dengan menggunakan mikroorganisme keratinolitik yang mampu menghasilkan keratinase dan mendegradasi keratin menjadi asam amino dan peptida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan kadar protein terlarut dari limbah bulu ayam yang telah dimodifikasi secara enzimatik menggunakan enzim keratinase dan mengetahui pengaruh pakan ternak dengan sumber protein alternatif limbah bulu ayam terhadap penampilan produksi ayam broiler.

Enzim keratinase diproduksi oleh Bacillus sp. SLII-I melalui fermentasi menggunakan media feather meal (FM) yang mengandung bulu. Enzim keratinase diisolasi menggunakan metode sentrifugasi dan diukur aktivitas erta kandungan protein enzim. Limbah bulu dimodifikasi secara enzimatik dan diamati peningkatan kadar protein terlarutnya. Hasil modifikasi enzimatik limbah bulu yang memiliki kadar protein terlarut

tertinggi dikonversi menjadi sumber protein alternatif pakan yang digunakan sebanyak 5% dalam formula pakan. Pakan diuji coba pada ternak ayam broiler (*Gallus domesticus*) selama sebulan dengan dengan parameter pengukuran konsumsi pakan, penambahan bobot badan, dan konversi pakan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan prosedur analisis ragam (Analysis of Variance /ANOVA) dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil Penelitian menunjukan bahwa *Bacillus sp. SLII-I* mampu menghasilkan menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2,08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22,06% dan memberikan pengaruh terhadap penampilan produksi ayam broiler dibandingkan dengan tepung bungkil kedelai dan tepung ikan. Adapun ayam broiler dengan pakan tepung bulu memberikan penampilan produksi meliputi konsumsi pakan, penambahan berat badan, dan konversi pakan masing-masing sebesar 1194,8 gram/ekor, 567 gram/ekor, dan 2,11.

Kata kunci: *Bacillus sp. SLII-I*, Keratinase, Keratin, Pakan Ternak, Ayam broiler.

ENZYMATIC MODIFICATION OF CHICKEN FEATHERS WASTE AS LIVESTOCK FEED RICH IN NUTRIENTS

Student Name : Ditya Larasati
NRP : 1511 100 046
Department : Biology
Advisor Lecturer : Dr. techn. Endry Nugroho P, MT.

Abstract

Feathers is organic waste consists of 90% keratin protein that have α -heliks (α -keratin) or β -sheet (β -keratin) structure link by disulfide and hydrogen bonds. Structures and linkages of keratin make feathers waste very difficult to degrade. Despite the rigid structure of keratin, it can be degraded by mechanical, chemical, and biological methods. The major drawback of mechanical and chemical degradation methods is requires great input energy, give rise to environmental problems, and are destructive to certain amino acids that leads to low protein quality and digestibility.

The alternative and innovative solution to overcome abundant of feathers waste is by the utilization of keratinolytic microorganism capable of producing keratinase and degrade keratin become amino acids and peptides. This research aimed at ascertaining increase levels of protein dissolved from chicken feathers waste that has been modified enzymatically using keratinase and find out the influence of livestock feed with alternatice source of protein from chicken feathers waste to production performance of broiler chicken.

Keratinase produced by Bacillus sp. SLII-I through fermentation using feather meal media (FM) containing feather. Keratinase isolated by centrifugation method, aktivy and protein content is measured. Chicken feathers waste modified enzymatically and levels of dissolved protein is observed. An enzymatic engineered feathers waste which have the highest increase level of dissolved protein converted into alternative

source of protein. Livestock feed with alternative source of protein from chicken feathers waste tested in broiler chicken for a month. The measurement parameter in feed consumption, body weight addition, and conversion of feed obtained and analyzed using ANOVA (Analysis of Variance) continued by Duncan (Pos Hoc Test) with the level of trust 95%.

The result show that *Bacillus* sp. *SLII-I* produce keratinase with 2,08 (mg/detik)/ml activity that can increase dissolved protein level till 22,06%. This alternative protein source show positive effect to the feed consumption, addition of weight, and feed conversion ration total are 1194,8 gram/head, 567 gram/head, and 2,1.

The research result show that *Bacillus* sp. *SLII-I* capable of producing keratinase with the activity of enzyme 2.08 (mg/detik)/ ml that could increase protein levels of dissolved protein of chicken feather until 22.06% and give the effect on production performance of broiler chicken compared with soybean meal and fish meal. Broiler chicken consumed feather meal give production performance which is feed consumption, addition of weight, and feed conversion ration that are 1194,8 gram/head, 567 gram/head, and 2,1.

Keyword: *Bacillus* sp. *SLII-I*, Keratinase, Keratin, Feed, Broiler chicken.

KATA PENGANTAR

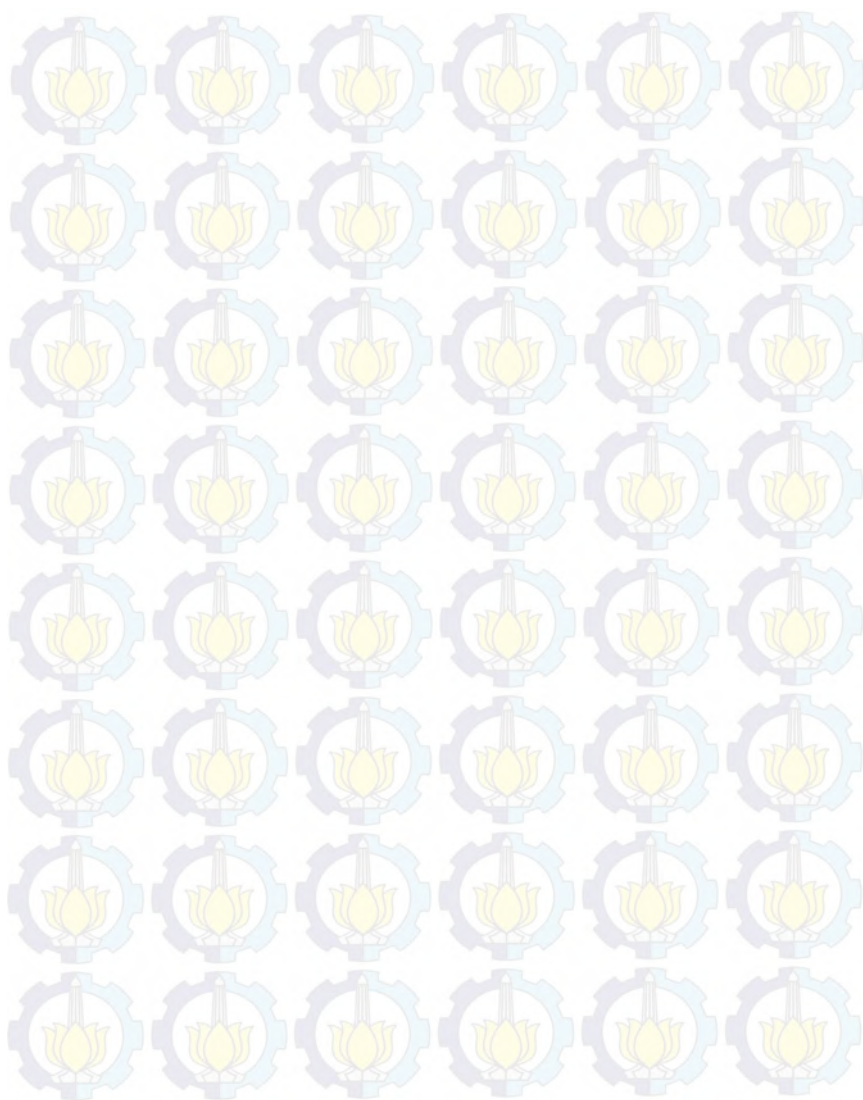
Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, inayah, taufiq, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan Tugas Akhir dengan judul **Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam Sebagai Pakan Ternak Kaya Nutrisi**. Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan Tugas Akhir tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT selaku pembimbing, Triono Bagus Saputro, S.Si, M.Si dan N. Dwianita Kuswytasari, S.Si, M.Si selaku tim penguji serta Maharani Pertiwi Koentjoro, S.Si., M. Biotech yang telah memberi masukan dan saran. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ayahanda Tjahjo Harsojo dan ibunda Theresia Puspita atas segala doa restu dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman dan seluruh pihak yang telah membantu.

Walaupun penulis menyadari masih banyak kekurangan, namun besar harapan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat.

Surabaya, 29 Juli 2015

Penulis



DAFTAR ISI

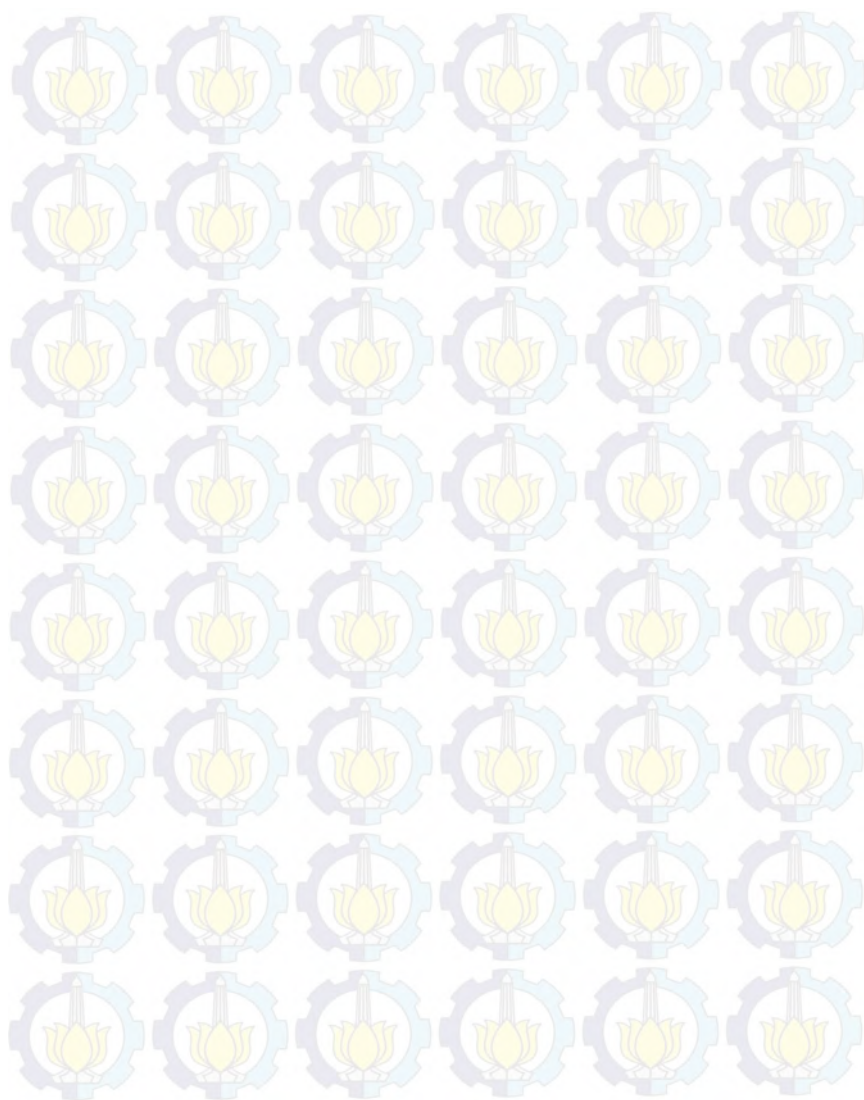
	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Permasalahan.....	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ayam Broiler	5
2.2 DOC (<i>Day Old Chick</i>) dan Penampilan Produksi Ayam Broiler.....	5
2.3 Nutrisi dan Pakan Ayam Broiler	7
2.4 Potensi Limbah Bulu Ayam	9
2.5 Keratin.....	11
2.6 Mikroorganisme Keratinolitik <i>Bacillus</i> sp	12
2.7 Keratinase.....	14
2.6 Optimasi Produksi Enzim Keratinase	14
2.8 Aktivitas Enzim Keratinase	15
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
3.2 Metode yang Digunakan	17
3.2.1 Produksi Enzim Keratinase oleh <i>Bacillus</i> sp.	17
3.2.1.1 Preparasi Tepung Bulu (<i>Feather Meal</i>)	17
3.2.1.2 Peremajaan dan Aklimatisasi <i>Bacillus</i> sp.	17

3.2.1.3 Preparasi Starter <i>Bacillus</i> sp	18
3.2.1.4 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase	18
3.2.2 Purifikasi Enzim Keratinase <i>Bacillus</i> sp	19
3.2.3 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase	19
3.2.3.1 Aktivitas Enzim Keratinase	20
3.2.3.2 Kadar Protein Enzim Keratinase	20
3.2.4 Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam	21
3.2.5 Kadar Protein Terlarut.....	22
3.2.7 Perlakuan Pemberian Pakan Ayam Broiler	22
3.2.8 Pengamatan Penampilan Produksi Ayam Broiler	23
3.2.8.1 Konsumsi Pakan Ayam Broiler.....	23
3.2.8.2 Pertambahan Berat Badan (PBB) Ayam Broiler	23
3.2.8.3 Konversi Pakan Ayam Broiler	24
3.3 Rancangan Percobaan dan Analisa Data	24
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase.	25
4.2 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase...	27
4.3 Tingkat Kadar Protein Terlarut Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam	28
4.4 Uji Biologis Pakan Ayam Terhadap Penampilan Produksi Ayam Broiler	29
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran	35
 DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	49
BIODATA PENULIS	79

DAFTAR TABEL

Halaman

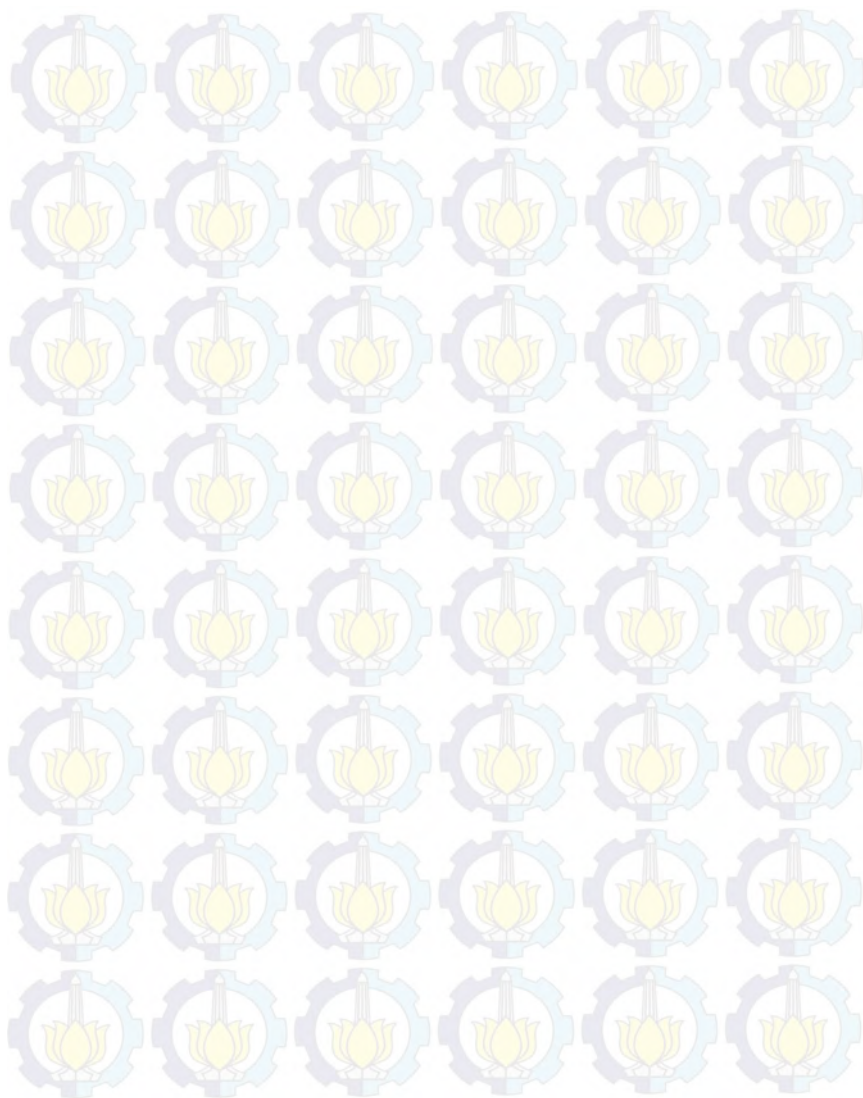
Tabel 2.1	Standar Penampilan Produksi Ayam Broiler Umur 1-6 Minggu	6
Tabel 2.2	Rekomendasi Hubungan Tingkat Protein dan Energi dalam Pakan Ayam Broiler.....	8
Tabel 2.3	Komposisi Asam Amino Tepung Bulu Ayam, Tepung Ikan, dan Bungkil Kedelai....	10
Tabel 3.1	Komposisi dan Kadar Nutrisi Pakan Ayam Broiler	23
Tabel 4.1	Pengaruh Pakan terhadap Tampilan Produksi Ayam Broiler	31



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Ikatan Sistin Disulfida Pada Keratin	11
Gambar 2.2	Struktur Protein Keratin.....	11
Gambar 4.1	Fermentasi Bulu Ayam oleh isolat <i>Bacillus</i> sp. SLII-I pada media FM	25
Gambar 4.2	Profil Pertumbuhan Isolat <i>Bacillus</i> sp. SLII-I pada Media FM Produksi Enzim Keratinase	26
Gambar 4.3	Peningkatan Kadar Protein Terlarut Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam	28
Gambar 4.4	Konsumsi Pakan dan Pertumbuhan Ayam Broiler (<i>Gallus domesticus</i>) Selama Masa Penelitian.....	30



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1:	Media <i>Nutrient Agar</i> (NA)	49
Lampiran 2:	Media <i>Nutrient Broth</i> (NB)	50
Lampiran 3:	Media <i>Feather Meal Broth</i> (FMB)	51
Lampiran 4:	Media <i>Feather Meal</i> (FM).....	52
Lampiran 5:	Larutan Penyangga Fosfat (pH 7,0-7,2) ...	53
Lampiran 6:	Kurva Standar Bovine Serum Albumin....	54
Lampiran 7:	Kurva Pertumbuhan Isolat <i>Bacillus</i> sp. SLII-I Pada Media FM Starter	55
Lampiran 8:	Tabel Pengamatan Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase	56
Lampiran 9:	Analisa Kadar Nutrisi Bungkil Kedelai, Tepung Ikan, dan Tepung Ikan	57
Lampiran 10:	Tabel Pengamatan Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam	58
Lampiran 11:	Tabel Pengamatan Konsumsi Pakan Ayam Broiler	59
Lampiran 12:	Tabel Pengamatan Pertumbuhan Ayam Broiler	62

Lampiran 13:	Uji Statistik <i>Anova-twoway</i> Pengaruh Jenis Sumber Protein terhadap Konsumsi Pakan, Pertambahan Berat Badan, dan Konversi Pakan Ayam Broiler	65
Lampiran 14:	Uji <i>Duncan's</i> Pengaruh Jenis Sumber Protein terhadap Konsumsi Pakan, Pertambahan Berat Badan, dan Konversi Pakan Ayam Broiler.....	66
Lampiran 15:	Preparasi Tepung Bulu (<i>Feather Meal</i>) ...	69
Lampiran 16:	Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase oleh <i>Bacillus</i> sp. SLII-I	70
Lampiran 17:	Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam dan Konversi Tepung Bulu Menjadi Sumber Protein Alternatif.....	71
Lampiran 18:	Pembuatan Pakan Penelitian.....	72
Lampiran 19:	Pemeliharaan Ayam Broiler	75
Lampiran 20:	Pemberian Pakan dan Minum.....	76
Lampiran 21:	Penimbangan Ayam Broiler	79
Lampiran 22:	Ayam Hasil Penelitian	80

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bulu unggas merupakan salah satu limbah organik yang ada dalam kuantitas besar sebagai produk samping dari peternakan. Pada umumnya setiap unggas memiliki hingga 125 g bulu (Lakshmi *et al.*, 2013) yang merupakan 5-7% dari berat total ayam dewasa (Matikevičienė *et al.*, 2009). Sementara itu, sebanyak 400 juta ayam diproses setiap minggu di seluruh dunia (Lakshmi *et al.*, 2013) sehingga akumulasi tahunan dari limbah bulu ayam mencapai 5 juta ton (Han *et al.*, 2012). Limbah bulu unggas yang dibuang biasanya ditimbun atau dibakar sehingga menyebabkan masalah lingkungan global seperti pencemaran udara dan sumber air bawah tanah (Cai *et al.*, 2008; Matikevičienė *et al.*, 2009) serta pemborosan sumber daya kaya protein (Cai *et al.*, 2008). Bulu unggas yang dibuang juga menyebabkan berbagai infeksi termasuk klorosis, mycoplasmosis, dan kolera unggas (Williams *et al.*, 1991).

Bulu unggas sebagai sumber daya kaya protein terdiri atas 90 % keratin (Matikevičienė *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2008). Keratin merupakan protein tidak larut air yang memiliki struktur α -heliks (α -keratin) atau β -sheet (β -keratin) dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen (Riffel dan Brandelli, 2006; Mazotto *et al.*, 2011). Struktur-struktur ini menggulung membentuk struktur yang kompleks (Kreplak *et al.*, 2004). Struktur dan ikatan dalam keratin membuat keratin sangat stabil dan resisten terhadap agen biokimia (Mazotto *et al.*, 2011) sehingga sulit didegradasi menggunakan protease umum seperti tripsin, pepsin, dan papain (Mousavi *et al.*, 2013).

Sifat kimia keratin yang tidak reaktif menyebabkan limbah bulu unggas mengalami daur ulang yang buruk di alam dan memiliki keterbatasan utilitas. Meski demikian, bulu unggas dapat didegradasi dengan menggunakan metode mekanis, kimia,

dan biologi (Mousavi *et al.*, 2013). Kekurangan dari metode mekanis dan kimia adalah membutuhkan input energi yang besar, menimbulkan masalah lingkungan, dan merusak asam-asam amino tertentu seperti metionin, lisin, dan triptofan. Degradasi menggunakan metode mekanis dan kimiawi juga menghasilkan asam amino tidak bernutrisi seperti lantionin dan lisinoalanin (Marcondes *et al.*, 2008). Hal ini menyebabkan kualitas protein dan kemampuannya untuk dicerna rendah (Zerdani *et al.*, 2004) sehingga limbah bulu unggas yang diubah menjadi suplemen makanan secara konvensional memiliki kualitas yang buruk dan tidak menguntungkan secara ekonomi (Acda, 2010).

Solusi alternatif dan inovatif untuk mengatasi limbah bulu unggas yang melimpah adalah dengan menggunakan mikroorganisme keratinolitik yang mampu menghasilkan keratinase dan peptidase yang dapat mendegradasi keratin (Mazotto *et al.*, 2011). Mikroorganisme keratinolitik terdiri atas beberapa spesies fungi seperti *Microsporum* (Essien *et al.*, 2009), *Trichophyton* (Anbu *et al.*, 2008), dan *Actinomycetes* (Bockle *et al.*, 1995) serta beberapa spesies bakteri seperti *Bacillus* (Cai dan Zheng, 2009; Macedo *et al.*, 2005; Pillai dan Archana, 2008) dan *Streptomyces* (Syed *et al.*, 2009). Sebagian besar jamur yang menghasilkan keratinase bersifat patogen (Lin *et al.*, 1992). Oleh karena itu, banyak penelitian yang menggali potensi keratinase yang berasal dari bakteri (Esawy, 2007). Penelitian yang telah ada menunjukkan bahwa *Bacillus* spp. memiliki keunggulan khusus dalam mendegradasi bulu karena tingkat keamanan dan kemampuan untuk mengeluarkan sejumlah besar keratinase langsung ke dalam media (Agrahari dan Wadha, 2010).

Keratinase adalah enzim protease spesifik yang hanya dapat mendegradasi keratin (Mazotto *et al.*, 2011). Keratinase akan menyerang ikatan disulfide untuk mendegradasi keratin (Agrahari, 2013). Biodegradasi keratin menggunakan enzim keratinase menghasilkan peptida dan asam amino yang langka seperti serin, sistein, dan prolin (Mousavi *et al.*, 2013) serta asam amino esensial seperti treonin, valin, metionin, isoleucin, leusin,

lisin, histidin, dan tirosin (Ali *et al.*, 2011). Limbah bulu ayam yang mengandung protein keratin tinggi memiliki potensi untuk digunakan sebagai sumber protein alternatif (Agrahari, 2013) serta dapat diaplikasikan dalam pembuatan pakan ternak (Sastry *et al.*, 1986) yang murah dan kaya nutrisi (Balaji *et al.*, 2008; Khardenavis *et al.*, 2009). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan limbah bulu ayam yang dimodifikasi secara enzimatik oleh enzim keratinase *Bacillus* sp. SLII-I dan dikonversi menjadi sumber protein alternatif pada pakan ayam broiler (*G. domesticus*) sehingga menghasilkan pakan ternak yang murah dan kaya nutrisi.

1.2 Rumusan Permasalahan

Keratin yang terdapat dalam limbah bulu ayam dapat didegradasi dan dimodifikasi secara enzimatik menghasilkan sumber protein alternatif yang diaplikasikan dalam pembuatan pakan ternak yang murah dan kaya nutrisi. Berdasarkan hal tersebut, dapat dirumuskan masalah mengenai peningkatan kadar protein terlarut hasil modifikasi enzimatik limbah bulu ayam serta pengaruh pakan ternak dengan sumber protein alternatif limbah bulu ayam terhadap penampilan produksi ayam broiler meliputi konsumsi pakan, penambahan bobot badan, dan konversi pakan.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mikroorganisme keratinolitik yang digunakan adalah Isolat *Bacillus* sp. SLII-I.
2. Keratinase yang diproduksi dalam penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium.
3. Hewan percobaan yang diberi pakan ternak dalam penelitian ini adalah ayam broiler (*G. domesticus*) dengan parameter pengukuran konsumsi pakan (g/ekor), penambahan bobot badan (g/ekor), dan konversi pakan.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peningkatan kadar protein terlarut dari limbah bulu ayam yang telah dimodifikasi secara enzimatik menggunakan enzim keratinase dan mengetahui pengaruh pakan ternak dengan sumber protein alternatif limbah bulu ayam terhadap penampilan produksi ayam broiler meliputi konsumsi pakan, pertambahan bobot badan, dan konversi pakan.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah mengurangi limbah bulu yang menyebabkan pencemaran lingkungan serta mengolah kembali limbah tersebut melalui teknologi enzim keratinase menjadi pakan ternak yang murah dan kaya nutrisi. Selain itu, penelitian ini menjadi dasar dalam aplikasi biodegradasi keratin dan bioteknologi dalam pembuatan pakan ternak skala industri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan bangsa ayam penghasil daging dan banyak dikembangkan sebagai sumber protein hewani (Pratikno, 2002). Ayam broiler merupakan hasil perkawinan silang dari sistem berkelanjutan sehingga mutu genetiknya baik (Abidin, 2002). Adapun taksonomi ayam broiler menurut Hanifah (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Aves
Subkelas : Neornithes
Ordo : Galliformis
Genus : Gallus
Spesies : *G. domesticus*

Ayam broiler memiliki karakter yang menguntungkan bagi peternak dan konsumen. Adapun karakter yang dimiliki ayam broiler adalah dagingnya empuk, kulit licin dan lunak, tulang rawan dada belum membentuk tulang yang keras, ukuran tubuh besar, bentuk dada yang lebar dan berisi, efisiensi terhadap pakan cukup tinggi, konversi pakan menjadi daging besar, dan pertumbuhannya yang sangat cepat sehingga ayam mencapai berat ± 2 kg pada umur 5-6 minggu (Rasyaf, 1995).

2.2 DOC (Day Old Chick) dan Penampilan Produksi Ayam Broiler

Pemilihan DOC atau anak ayam yang digunakan untuk produksi ayam broiler menurut Rasyaf (2002) perlu memenuhi beberapa kriteria antara lain anak ayam berasal dari induk yang sehat, ukuran dan berat badan baik, tidak cacat secara fisik, kondisi mata cerah, aktif, dan tidak ada lekatan tinja diduburnya. Manajemen produksi menentukan perkembangan bibit ayam broiler. Perbedaannya terletak pada konsumsi pakan,

pertumbuhan ayam, dan konversi pakan (Rasyaf, 2002). Standar penampilan produksi ayam broiler ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Standar Penampilan Produksi Ayam Broiler Umur 1-6 Minggu

Umur (minggu)	Berat Badan (gram)	Konsumsi Pakan (gram/ekor)	Konsumsi Pakan Akumulatif (gram /ekor)	Konversi Pakan
1	184	165	165	0,897
2	470	369	534	1,136
3	912	646	1.180	1,293
4	1.477	948	2.128	1,441
5	2.109	1.223	3.351	1,589
6	2.760	1.443	4.794	1,736

Sumber: Tamalludin (2014)

Konsumsi pakan merupakan kegiatan masuknya sejumlah nutrisi yang ada dalam pakan untuk memenuhi kebutuhan ternak (Ketaren, 2008). Pakan yang baik dikonsumsi secara normal dan mampu mensuplai zat-zat makanan yang diperlukan oleh tubuh (Wahyu, 1992). Konsumsi pakan diukur dalam waktu satu minggu. Konsumsi pakan akumulatif adalah pakan yang dikonsumsi pada minggu sebelumnya ditambahkan dengan konsumsi pakan pada minggu ini (Paraksi, 1983).

Pertumbuhan adalah pertambahan dalam bentuk dan berat jaringan-jaringan tubuh seperti urat daging, tulang, jantung, otak, dan jaringan tubuh yang lain kecuali lemak (Anggorodi, 1990). Pertumbuhan umumnya dinyatakan dengan pengukuran pertambahan berat badan yang dilakukan dengan penimbangan (Tillman *et al.*, 1986). Pertumbuhan yang cepat berkorelasi dengan konsumsi pakan yang lebih banyak (Rasyaf, 2002). Pertambahan berat badan ayam menentukan jumlah konsumsi pakan. Semakin besar berat badan ayam, semakin banyak pula konsumsi pakan (Kartadisastra, 1994). Faktor pendukung

pertumbuhan ayam broiler antara lain pakan, temperatur lingkungan, dan pemeliharaan (Rasyaf, 2002).

Konversi pakan didefinisikan sebagai banyaknya pakan yang dikonsumsi untuk menghasilkan setiap kilogram pertambahan bobot badan. Tolak ukur utama dalam menentukan keberhasilan bisnis ayam broiler adalah konversi pakan (Tamalludin, 2014). Angka konversi pakan yang kecil menunjukkan jumlah pakan yang digunakan untuk menghasilkan 1 kg daging semakin sedikit (Kartasudjana dan Suprijatna, 2006).

2.3 Nutrisi dan Pakan Ayam Broiler

Ayam broiler mengkonsumsi pakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi (Ketaren, 2008). Kebutuhan nutrisi ayam broiler antara lain asam amino dan protein, energi, vitamin, mineral, dan air (Rasyaf, 2002). Pakan merupakan salah satu unsur yang berpengaruh penting terhadap tampilan produksi ayam broiler dimana pakan yang berkualitas akan memberikan konversi pakan yang baik dan pertumbuhan yang cepat (Tamalludin, 2014).

Protein berfungsi sebagai bahan pembangun dan pembentuk jaringan tubuh, pembentuk enzim dan bagian dari enzim, dan kebutuhan reproduksi, dan dalam kondisi kekurangan energi, protein akan dimanfaatkan oleh tubuh untuk diubah menjadi energi (Rasyaf, 2002). Sumber protein nabati yang sering digunakan untuk bahan pakan adalah bungkil kacang kedelai dan bungkil kelapa sedangkan sumber protein hewani yang sering digunakan adalah tepung ikan, tepung darah, tepung daging, tepung tulang, dan sisa rumah potong lainnya (Tamalludin, 2014).

Ayam broiler membutuhkan energi untuk aktivitas hidup dan produksi daging (Rasyaf, 2002). Sumber energi yang sering digunakan untuk bahan pakan adalah bahan yang mengandung karbohidrat seperti biji-bijian antara lain jagung kuning, gandum, gaplek, dedak, padi, dan polar. Formula pakan yang mengandung energi dan protein lebih tinggi akan menghasilkan efisiensi pakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pakan yang mengandung

nutrisi lebih rendah (Tamalludin, 2014). Rekomendasi hubungan tingkat protein dan energi dalam pakan ayam broiler ditunjukkan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Rekomendasi Hubungan Tingkat Protein dan Energi dalam Pakan Ayam Broiler

Energi Metabolisme (kkal/kg)		Protein (%)	
Massa Awal	Massa Akhir	Massa Awal	Massa Akhir
2.741	2.851	21,6	19,5
2.851	2.961	22,4	20,0
2.961	3.070	23,3	20,5
3.070	3.180	24,1	21,2
3.180	3.290	25,0	22,0
3.290	3.399	25,9	22,7

Sumber: Rasyaf (1992)

Vitamin merupakan komponen organik yang berperan penting dalam metabolisme tubuh. Ayam broiler masa awal membutuhkan vitamin untuk pertumbuhan, daya tahan terhadap penyakit, dan keindahan bulu ayam. Berdasarkan kelarutannya vitamin dibedakan atas dua kelompok yaitu vitamin yang larut dalam air dan vitamin yang larut dalam lemak (Rasyaf, 2002).

Ayam broiler membutuhkan mineral untuk pertumbuhan tulang terutama pada ayam broiler masa awal. Mineral-mineral utama yang banyak dibutuhkan adalah kalsium (Ca), fosfor (P), sodium, potassium, magnesium, dan klorin. Sedangkan mineral-mineral lainnya yang juga dibutuhkan adalah besi, mangan, copper, molibalin, zinc, dan selenium (Rasyaf, 2002).

Ayam broiler membutuhkan air agar fungsi metabolisme berlangsung dengan baik. Ayam broiler mendapatkan air melalui tiga cara yaitu air minum, pakan, dan air metabolis. Kebutuhan air minum dipengaruhi oleh temperatur kandang, aktivitas ayam, dan umur ayam (Rasyaf, 2002).

2.4 Potensi Limbah Bulu Ayam

Produksi daging ayam nasional di Indonesia pada tahun adalah 2.554.200 ton dimana 52,4% (1.337.900 ton) adalah daging ayam broiler (Tamalludin, 2014). Produksi daging yang tinggi diikuti oleh penumpukan limbah bulu ayam yang tinggi pula. Limbah bulu unggas yang dibuang biasanya ditimbun atau dibakar sehingga menyebabkan masalah lingkungan global seperti pencemaran udara dan sumber air bawah tanah (Cai *et al.*, 2008; Matikevičienė *et al.*, 2009) serta pemborosan sumber daya kaya protein (Cai *et al.*, 2008).

Limbah bulu ayam mengandung protein keratin yang tinggi sebesar 90% (Matikevičienė *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2008) berpotensi digunakan sebagai sumber protein alternatif yang murah (Agrahari, 2013). Akan tetapi, bulu ayam memiliki daya cerna yang rendah karena tidak mampu didegradasi oleh enzim protease pencernaan pada umumnya (Pissuwan *et al.*, 2008). Oleh karena itu perlu dilakukan proses daur ulang terlebih dahulu sebelum digunakan. Daun ulang dengan menggunakan metode mekanis dan kimia dapat merusak asam-asam amino tertentu sehingga kualitas dan pencernaan protein menurun (Zerdani *et al.*, 2004). Solusi alternatif adalah dengan menggunakan mikroorganisme keratinolitik yang mampu menghasilkan enzim keratinase sehingga dapat menghidrolisis dan meningkatkan daya cerna dari keratin bulu (Lee *et al.*, 1991). Kecernaan bahan kering bulu ayam setelah diproses dapat ditingkatkan menjadi 20-80% (Steiner *et al.*, 1983).

Bulu yang telah dihidrolisis menjadi tepung bulu terhidrolisis dapat digunakan sebagai sumber protein alternatif untuk pakan ayam pedaging (Rasyaf, 1994) yang selama ini umumnya menggunakan tepung bungkil kedelai dan tepung ikan (Adiati *et al.*, 2002). Penggunaan tepung bungkil kedelai dan tepung ikan yang masih impor membuat harga pakan relatif mahal (Tamalludin, 2014). Komposisi asam amino tepung bulu ayam, tepung ikan, dan bungkil kedelai ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi Asam Amino Tepung Bulu Ayam, Tepung Ikan, dan Bungkil Kedelai

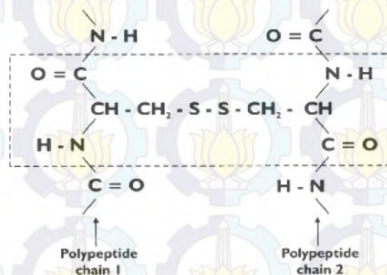
Asam Amino (%)	Tepung Bulu Ayam	Tepung Ikan	Bungkil Kedelai
Arginin	5,57	4,21	3,14
Histidin	0,95	1,74	1,17
Isoleusin	3,91	3,23	1,96
Leusin	6,94	5,46	3,39
Lisin	2,28	5,47	2,69
Methionin	0,57	2,16	0,62
Penilalanin	3,94	2,82	2,16
Treonin	3,81	3,07	1,72
Trptofan	0,55	0,83	0,74
Valin	5,93	3,90	2,07
Aspartat	6,00	4,41	3,06
Serin	16,0	3,75	1,20
Glutamat	12,11	7,05	3,81
Prolin	12,0	3,93	2,40
Glisin	6,92	3,83	2,65
Alanin	3,44	3,19	2,95
Sistin	8,85	0,63	0,65
Tirosin	1,10	1,59	2,60
Asparagin	4,40	-	-
Glutamin	7,62	-	-

Sumber: Ketaren (2008), Sitompul (2004), dan Saravanan (2012)

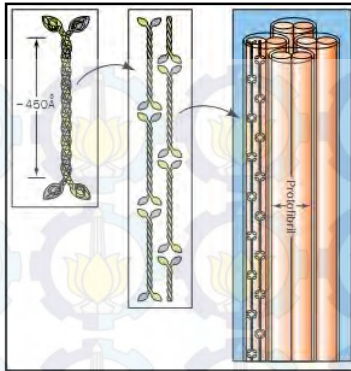
Penggunaan tepung bulu terhidrolisis dalam pakan ayam pedaging masih berbeda-beda yaitu 2,5% (Morris dan Balloun, 1973), 5% (Williams *et al.*, 1991), dan 6% (Cabel *et al.*, 1988; Kamal, 1985). Ketaren (2008) melakukan penelitian tentang pemanfaatan limbah bulu ayam sebagai sumber protein ayam pedaging dimana hidrolisat tepung bulu yang digunakan adalah hasil fermentasi. Penggunaan hidrolisat tepung bulu ayam sebanyak 5% menghasilkan tampilan produksi ayam broiler yang baik (Ketaren, 2008).

2.5 Keratin

Keratin terdiri atas sejumlah asam amino yang sebagian besar adalah sistin, prolin, dan serin (Ward *et al.* 1955; Harrar dan Woods 1963). Asam-asam amino berikatan saling silang membentuk ikatan disulfide dan hidrogen (Kaluzewska *et al.*, 1991) menghasilkan serat protein yang keras, kuat, dan ringan (Schmidt 2002; Poole *et al.*, 2009). Protein serat keratin yang terbentuk dari ikatan silang antara rantai-rantai asam amino yang berdekatan dan rapat menyebabkan molekul air sukar menerobos masuk sehingga keratin tidak larut di dalam air (hidrofobik) (Ketaren, 2008). Struktur dan ikatan dalam keratin membuat keratin sangat stabil dan resisten terhadap agen biokimia (Mazotto *et al.*, 2011) sehingga sulit didegradasi menggunakan protease umum seperti tripsin, pepsin, dan papain (Mousavi *et al.*, 2013; Mabrouk, 2008).



Gambar 2.1 Ikatan Sistin Disulfida Pada Keratin (Saravanan, 2012).



Gambar 2.2 Struktur Protein Keratin. (a) struktur α helix keratin; atom karbon berwarna abu-abu, nitrogen berwarna biru, gugus R berwarna ungu dan hidrogen berwarna putih; kemudian (b) dua struktur α helix membentuk ikatan dimer, struktur dimer membentuk mikrofilamen, struktur mikrofilamen membentuk mikrofibril keratin (Voet dan Voet, 1998).

2.6 Mikroorganisme Keratinolitik *Bacillus* sp.

Mikroorganisme keratinolitik merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan keratinase dan peptidase yang dapat mendegradasi keratin (Mazotto *et al.*, 2011). Mikroorganisme keratinolitik terdiri atas beberapa spesies fungi seperti *Microsporum* (Essien *et al.*, 2009), *Trichophyton* (Anbu *et al.*, 2008), dan *Actinomycetes* (Bockle *et al.*, 1995) serta beberapa spesies bakteri seperti *Bacillus* (Cai dan Zheng, 2009; Macedo *et al.*, 2005; Pillai dan Archana, 2008) dan *Streptomyces* (Syed *et al.*, 2009). Sebagian besar jamur yang menghasilkan keratinase bersifat patogen (Lin *et al.*, 1992). Oleh karena itu, banyak penelitian yang menggali potensi keratinase yang berasal dari bakteri (Esawy, 2007).

Genus *Bacillus* spp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim ekstraseluler keratinase (Cai dan Zheng,

2009; Macedo *et al.*, 2005; Pillai dan Archana, 2008). Keunggulan yang dimiliki oleh *Bacillus* adalah tingkat keamanan dan kemampuan untuk mengeluarkan sejumlah besar keratinase langsung ke dalam media (Agrahari dan Wadha, 2010). *Bacillus* mampu menghasilkan keratinase karena memiliki Gen kerA merupakan gen yang mengkode enzim keratinase (Lin *et al.*, 1995). Adapun klasifikasi *Bacillus* spp. menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt dan Krieg, 2000) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Divisio : Firmicutes
Classis : Bacilli
Ordo : Bacillales
Familia : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus* spp.

Genus *Bacillus* merupakan salah satu bakteri yang mempunyai berbagai macam kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. *Bacillus* memiliki potensi untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena karakteristiknya yang mampu hidup pada kisaran suhu yang luas, membentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob, memiliki kemampuan enzimatis yang beragam, dan beberapa spesiesnya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa rekalsitran dan xenobiotik (Atlas dan Bartha, 1987)

Genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena tiap-tiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda, yaitu mampu mengdegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa hidrokarbon dan agar, mampu menghasilkan antibiotik, berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi, pengikat nitrogen, pengoksidasi selenium, pengoksidasi dan pereduksi mangan (Mn), bersifat khemolitotrof, aerob atau fakutatif anaerob, asidofilik atau alkalifilik, psikoprifilik, atau termofilik (Claus dan Barkeley, 1986).

2.7 Keratinase

Keratinase merupakan enzim ekstraselular yang dihasilkan oleh mikroorganisme keratinolitik dan hanya diproduksi bila ada substrat keratin (Kumar *et al.*, 2008). Bakteri menghasilkan keratinase kelompok protease serin sementara fungi yang menghasilkan keratinase yang termasuk kelompok protease aspartik (Lin *et al.*, 1993). Keratinase termasuk dalam kelompok hidrolase yang mampu menghidrolisis keratin lebih efisien dibandingkan protease lainnya (Vigneshwaran *et al.*, 2010; Kanmani *et al.*, 2011). Keratinase pada umumnya memiliki berat molekul 20-50 kDa (Zang *et al.*, 2009). Gen *kerA* merupakan gen yang mengkode enzim keratinase (Lin *et al.*, 1995).

Keratinase adalah enzim protease spesifik yang hanya dapat mendegradasi keratin (Mazotto *et al.*, 2011). Keratinase akan menyerang ikatan disulfide untuk mendegradasi keratin (Agrahari, 2013). Biodegradasi keratin menggunakan enzim keratinase merupakan proses yang ramah lingkungan dan memainkan peranan penting dalam aplikasi bioteknologi dan industri seperti produksi pupuk, lem, film, dan foil (Zerdani *et al.*, 2004), alternatif penggunaan natrium sulfida dalam proses dehairing di industri kulit (Alexander *et al.*, 2005), dan deterjen untuk menghilangkan regangan pada kain sehingga kain menjadi lembut (Gessesse *et al.*, 2002). Biodegradasi keratin dengan enzim keratinase digunakan pula untuk memproduksi asam amino yang langka seperti serin, sistein, dan prolin serta peptida (Mousavi *et al.*, 2013).

2.8 Optimasi Produksi Enzim Keratinase

Enzim keratinase merupakan enzim ekstraseluler yang diproduksi dalam fermentasi submerged dalam keadaan aerobik (Ali *et al.*, 2011). Produksi enzim keratinase diinduksi dengan keberadaan substrat yang spesifik (Cheng *et al.*, 1995) yaitu substrat keratin seperti bulu ayam, tepung bulu, wol, bulu sapi

yang dapat digunakan sebagai penginduksi (Kumar *et al.*, 2008; DeToni *et al.*, 2002; Ignatova *et al.*, 1999).

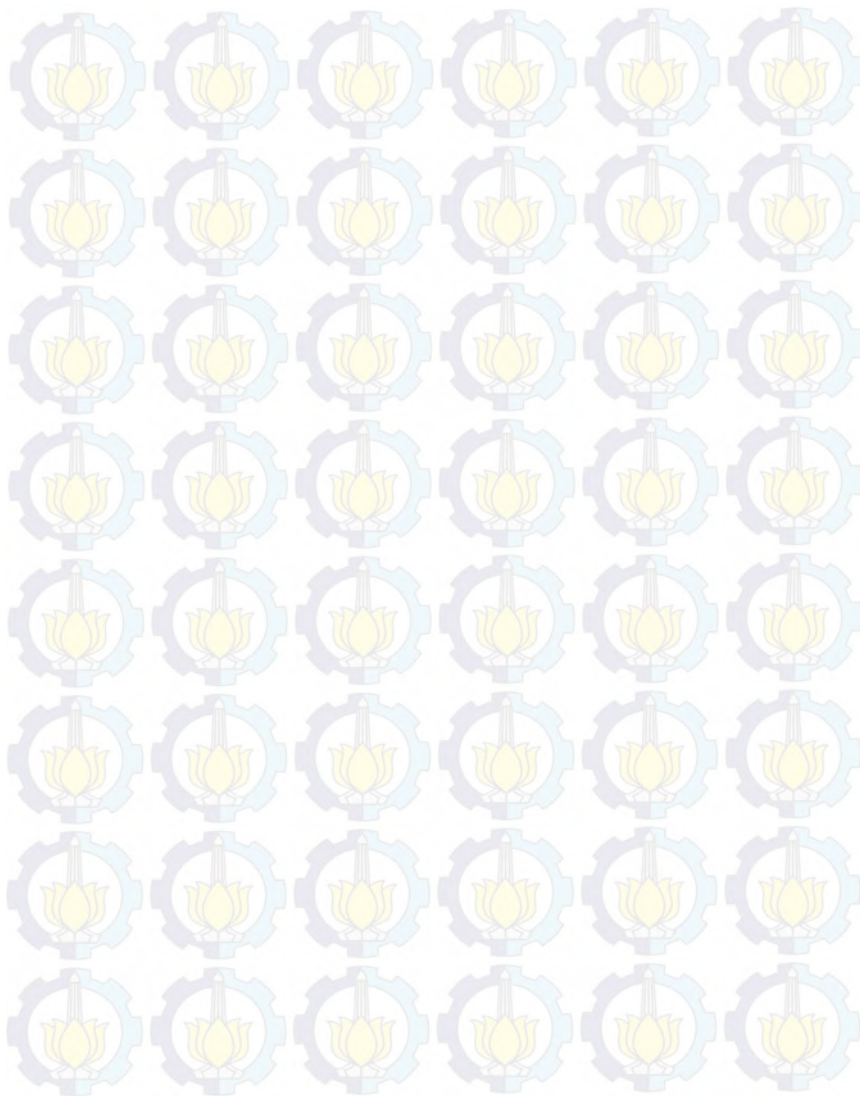
Enzim keratinase diproduksi paling optimal dalam media pengaya *Feather Meal* (FM) yang mengandung 10% tepung bulu pada pH 7.5 dan suhu 30°C (Agrahari dan Wadha, 2010). Asam amino esensial seperti treonin, valin, metionin, isoleucin, leusin, lisin, histidin, dan tirosin diproduksi selama proses fermentasi pada media FM (Ali *et al.*, 2011).

2.9 Aktivitas Enzim Keratinase

Aktivitas keratinolitik enzim keratinase dipengaruhi oleh pH dan suhu. Pada jangkauan pH asam hingga basa sekitar 3-9 aktivitas keratinase stabil dan aktif pada kondisi netral dan basa (Agrahari, 2013). Aktivitas keratinase akan turun sebanyak 21% dan 9% pada pH 3 dan pH 9 (Ali *et al.*, 2011). Aktivitas keratinase stabil pada jangkauan suhu 40°C hingga 80°C (Agrahari, 2013). Aktivitas keratinase akan turun bila suhu kurang dari 40 °C atau lebih dari 90°C (Ali *et al.*, 2011).

Aktivitas keratinolitik dipengaruhi pula oleh beberapa ion logam seperti Mg^{2+} , Ca^{2+} , dan Ba^{2+} . Ion-ion logam tersebut diduga memiliki peranan penting dalam mempertahankan konformasi aktif dari enzim. Ion-ion logam dapat digunakan untuk keperluan aplikasi dimana ion logam spesifik dapat ditambahkan untuk meningkatkan ataupun menghambat aktivitas enzim keratinase (Agrahari, 2013).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 hingga bulan Juni 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi serta Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Produksi Enzim Keratinase oleh *Bacillus* sp.

3.2.1.1 Preperasai Tepung Bulu (*Feather Meal*)

Preparasi tepung bulu ayam (*feather meal*) dilakukan berdasarkan metode Agrahari dan Wadha (2010) yang telah dimodifikasi. Bulu ayam dicuci dengan menggunakan sabun dan air hingga bersih lalu direbus selama 2-3 jam. Kemudian bulu ayam dikeringkan menggunakan sinar matahari. Bulu ayam yang telah kering selanjutnya dihancurkan dan dihaluskan sehingga terbentuk tepung bulu ayam.

3.2.1.2 Peremajaan dan Aklimatisasi *Bacillus* sp.

Isolat *Bacillus* sp. yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate *Bacillus* sp. SLII-I koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November. Peremajaan isolat *Bacillus* sp. dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) (Lampiran 1) dan media *Nutrient Broth* (NB) (Lampiran 2).

Isolat *Bacillus* sp. dikultur pada media mengandung bulu ayam agar *Bacillus* sp. teraklimatisasi tumbuh dengan menggunakan keratin sebagai sumber karbon. Aklimatisasi dilakukan dengan cara memindahkan 5 ml kultur *Bacillus* sp. dari media NB kedalam 45 ml media *Feather Meal Broth* (FMB) (Lampiran 3). Kultur diinkubasi selama 24 jam menggunakan

rotary shaker pada suhu ruang dengan kecepatan 110 rpm. Kemudian sebanyak 10 ml kultur *Bacillus* sp. dipindahkan dari media FMB kedalam 90 ml media *Feather Meal* (FM) (Lampiran 4) dan diinkubasi selama 24 jam menggunakan *rotary shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 110 rpm. Lalu sebanyak 20 ml kultur *Bacillus* sp. dipindahkan dari media FM lama kedalam 180 ml media FM baru dan diinkubasi selama 24 jam dengan *rotary shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 110 rpm.

3.2.1.3 Preparasi Starter *Bacillus* sp.

Starter *Bacillus* sp. dibuat dengan cara memindahkan sebanyak 25 ml kultur *Bacillus* sp. dari media FM lama kedalam 225 ml media FM baru. Kultur diinkubasi menggunakan *rotary shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 110 rpm selama 24-48 jam. Pertumbuhan *Bacillus* sp. diamati setiap 2 jam menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Isolat *Bacillus* sp. pada fase eksponensial digunakan sebagai starter fermentasi cair untuk memproduksi enzim keratinase.

3.2.1.4 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase

Enzim keratinase diperoleh melalui teknik fermentasi oleh isolat *Bacillus* sp. SLII-I. Produksi enzim keratinase dilakukan berdasarkan metode Anitha dan Eswari (2012). Starter *Bacillus* sp. sebanyak 1 ml diinokulasi kedalam gelas Erlenmeyer berisi 99 ml media FM. Biakan diinkubasi menggunakan *rotary shaker* pada kecepatan 110 rpm dan suhu 37 °C. Isolasi enzim keratinase dilakukan ketika kultur telah memasuki fase stasioner dimana enzim keratinase telah terakumulasi secara maksimal di dalam media kultur. Isolasi enzim dilakukan menggunakan metode sentrifugasi pada kultur *Bacillus* sp. dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Supernatan merupakan enzim kasar keratinase yang akan diamati aktivitas dan kandungan proteinnya serta dilakukan purifikasi.

3.2.2 Purifikasi Enzim Keratinase *Bacillus* sp.

Purifikasi enzim keratinase dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode presipitasi enzim dengan penambahan ammonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Penambahan garam ammonium sulfat akan menyebabkan *salting out* dimana terjadi penarikan air dari koloid protein akibat perubahan muatan listrik disekitar protein. Peristiwa ini menyebabkan interaksi hidrofobik diantara protein dan menurunkan kelarutan protein sehingga protein termasuk protein enzim akan mengendap.

Purifikasi enzim keratinase dilakukan dengan cara menambahkan ammonium sulfat padat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kedalam larutan enzim kasar keratinase sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga kejenuhan tertentu dimana untuk 20 ml enzim kasar ditambahkan 2,40 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (tingkat kejenuhan 0-30% fraksi 1), 1,78 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (tingkat kejenuhan 30%-45% fraksi 2), 1,87 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (tingkat kejenuhan 45%-60% fraksi 3), 1,96 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (tingkat kejenuhan 60%-75% fraksi 4), dan 2,07 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (tingkat kejenuhan 75%-90% fraksi 5). Larutan enzim dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dibiarkan selama satu malam pada suhu 4°C. Larutan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Supernatan digunakan untuk tahap fraksinasi selanjutnya. Sementara itu, fraksi protein yang mengendap dilarutkan dalam larutan penyangga fosfat (pH 7,0-7,2). Fraksi-fraksi protein yang diperoleh akan diamati aktivitas dan kandungan proteinnya.

3.2.3 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase

Pengukuran aktivitas dan kandungan protein enzim dilakukan untuk memastikan bahwa enzim yang diproduksi dan diisolasi merupakan enzim keratinase. Pengukuran aktivitas dan kandungan protein enzim dilakukan pada enzim kasar keratinase dan fraksi-fraksi protein enzim keratinase yang telah dipurifikasi parsial menggunakan ammonium sulfat.

3.2.3.1 Aktivitas Enzim Keratinase

Tepung bulu sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 160 ml larutan penyangga fosfat (pH 7,0-7,2) (Lampiran 5). Kemudian enzim keratinase sebanyak 0,16 ml ditambahkan kedalam larutan dan reaksi diinkubasi pada suhu 50 °C selama 7200 detik. Larutan didinginkan menggunakan air es pada suhu 0 °C lalu disaring menggunakan kertas *Whatman* nomor 1. Filtrat yang diperoleh merupakan protein larut air yang kadarnya ditentukan menggunakan metode Bradford berdasarkan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Lampiran 6).

Kontrol dalam uji aktivitas enzim keratinase adalah tepung bulu sebanyak 1 gram yang dilarutkan dalam 160 ml larutan penyangga fosfat (pH 7,0-7,2) tanpa penambahan enzim keratinase. Aktivitas dalam penelitian ini didefinisikan sebagai kemampuan keratinase menghidrolisis keratin menjadi protein larut air sebanyak 1 mg tiap detik dibandingkan dengan kontrol. Aktivitas keratinase ditentukan berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas} \left(\frac{\text{Unit}}{\text{ml}} \right) = \frac{\Delta DP / T}{V} \times DF$$

Keterangan:

ΔDP = Jumlah protein terlarut dibandingkan kontrol (mg)

T = Waktu inkubasi (detik)

V = Volume enzim keratinase (ml)

DF = Faktor pengenceran

3.2.3.2 Kadar Protein Enzim Keratinase

Pengukuran kadar protein enzim keratinase dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Bradford (1967) berdasarkan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA). Prinsip metode ini adalah pembentukan ikatan antara zat warna *Coomassie Brilliant Blue G-250* dengan protein sehingga dapat

diukur nilai *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm.

Reagen Bradford dibuat dengan melarutkan 100 mg coomasie brilliant blue (CBB) G-250 kedalam 50 ml etanol 95 % dan ditambahkan 100 ml asam fosfor 85 %. Larutan dilarutkan dengan akuades hingga volume akhir mencapai 1 liter.

Larutan standar protein dibuat dengan menimbang *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan dilarutkan dalam H₂O sehingga diperoleh larutan standar BSA dengan berbagai konsentrasi (w/v). Larutan BSA sebanyak 0.1 ml yang akan diuji ditambahkan 5 ml reagen Bradford. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi dibuat dalam bentuk kurva standar dengan persamaan $y = ax + b$, dimana y adalah nilai absorbansi dan x adalah nilai konsentrasi protein standar BSA.

Uji kadar protein enzim keratinase dilakukan dengan cara mereaksikan enzim keratinase sebanyak 0,1 ml dengan reagen Bradford sebanyak 5 ml. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Kadar protein enzim dapat ditentukan berdasarkan persamaan kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumine*) yang telah dibuat sebelumnya.

3.2.4 Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam

Modifikasi enzimatik limbah bulu ayam dilakukan dengan cara mereaksikan secara langsung tepung bulu dan berbagai volume enzim keratinase. Tepung bulu ayam sebanyak 1 gram dilarutkan kedalam 160 ml larutan penyangga fosfat (50 mM, pH 7.0). Kemudian enzim keratinase (0,04 ml, 0,08 ml, 0,12 ml, 0,16 ml, dan 0,20 ml) ditambahkan kedalam larutan. Reaksi diinkubasi pada suhu 50 °C selama 7200 detik. Larutan didinginkan menggunakan air es pada suhu 0 °C lalu disaring menggunakan kertas *Whatman* nomor 1. Filtrat yang diperoleh merupakan protein larut air yang kadarnya ditentukan menggunakan metode

Bradford berdasarkan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Lampiran 6).

Kondisi optimum antara volume enzim dan substrat yang menghasilkan kadar protein terlarut paling tinggi diaplikasikan dalam memodifikasi secara enzimatik limbah bulu ayam dan mengkonversinya menjadi sumber protein alternative dalam pakan ternak. Konversi menjadi pakan ternak dilakukan dengan menggunakan metode Poovendran *et al.* (2011) dimana larutan tepung bulu yang telah direaksikan dengan enzim dipanaskan hingga mendidih. Cairan akan menguap dan yang tersisa adalah tepung bulu yang digunakan sebagai sumber protein pada pakan ternak.

3.2.5 Kadar Protein Terlarut

Uji kadar protein terlarut dilakukan dengan cara mereaksikan sampel sebanyak 0.1 ml dengan reagen Bradford sebanyak 5 ml. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Kadar protein enzim dapat ditentukan berdasarkan persamaan kurva standar BSA (*Bovine Serum Albumine*) yang telah dibuat sebelumnya.

3.2.6 Perlakuan Pemberian Pakan Ayam Broiler

Pada penelitian ini digunakan bibit ayam broiler (DOC/ *Day Old Chick*) yang tidak dibedakan jenis kelaminnya (*unsex*). Kandang yang digunakan adalah kandang *litter* sebanyak 6 petak dengan ukuran tiap petak 70 x 70 x 60 cm. Setiap petak kandang diisi 5 ekor ayam sehingga terdapat 30 ekor DOC yang dipelihara dan diberi perlakuan pakan penelitian selama 4 minggu.

Formulasi perlakuan pakan penelitian terdiri atas beberapa jenis sumber protein antara lain tepung bungkil kedelai, tepung ikan, dan tepung bulu ayam. Tekstur pakan penelitian adalah tepung (*mash*) yang telah dikarakterisasi meliputi analisa kadar air, analisa kadar abu, analisa kadar lemak, analisa kadar protein,

dan analisa kadar karbohidrat. Komposisi dan kadar nutrisi pakan penelitian ditunjukkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Komposisi dan Kadar Nutrisi Pakan Ayam Broiler

Bahan Pakan	P1	P2	P3
Jagung Kuning (%) ¹	55	55	55
Dedak (%) ²	3	3	3
Tep. Bungkil Kedelai (%) ³	42	37	37
Tep. Ikan (%) ³	0	5	0
Tep. Bulu Ayam (%) ³	0	0	5
Protein (%)	27,95	28,15	29,35
Lemak (%)	2,77	2,82	2,79
Energi (Kkal/Kg)	3336,76	3297,91	3342,69

Sumber: 1. Murtidjo (1987)

2. Tamalludin (2014)

3. Analisa Laboratorium

3.2.7 Pengamatan Penampilan Produksi Ayam Broiler

3.2.7.1 Konsumsi Pakan Ayam Broiler

Konsumsi pakan ayam broiler setiap minggu bertambah sesuai dengan pertambahan bobot badan. Perhitungan konsumsi pakan broiler dilakukan dengan mengukur jumlah pakan yang dikonsumsi dan dibagi dengan total ayam dalam 1 minggu.

$$\text{Konsumsi Pakan Ayam Broiler} = \frac{\text{Konsumsi Pakan Akumulatif (g)}}{\text{Jumlah Ayam Broiler} \left(\frac{\text{ekor}}{\text{minggu}} \right)}$$

3.2.7.2 Pertambahan Bobot Badan (PBB) Ayam Broiler

Pengukuran bobot ayam broiler dilakukan dengan cara menimbang ayam setiap minggu. Pertambahan bobot badan diperoleh dari bobot badan akhir dikurangi dengan bobot badan awal.

$$\text{Pengukuran Bobot Ayam} = \frac{\text{Berat Total Ayam (g)}}{\text{Jumlah Ayam Broiler (Ekor)}}$$

$$PBB = \text{Bobot Awal} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right) - \text{Bobot Akhir} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)$$

3.2.7.3 Konversi Pakan Ayam Broiler

Konversi pakan ayam broiler (Feed Conversion Ratio/ FCR) merupakan perbandingan konsumsi akumulatif ayam tiap minggu dengan pertambahan bobot badan yang dicapai. Perhitungan FCR dilakukan tiap minggu.

$$FCR = \frac{\text{Konsumsi Pakan Akumulatif} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)}{\text{Pertambahan Berat Badan} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)}$$

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 Perlakuan dan 2 ulangan sehingga dihasilkan 6 unit percobaan. Masing-masing unit percobaan terdiri atas 5 ekor ayam broiler sebagai hewan coba. Pemberian pakan perlakuan antara lain:

- P1 : Pakan tanpa tepung bulu (0%) + 42% tepung bungkil kedelai (kontrol 1)
- P2 : Pakan tanpa tepung bulu (0%) + 37% tepung bungkil kedelai + 5% tepung ikan (kontrol 2)
- P3 : Pakan dengan tepung bulu 5% + 37% tepung bungkil kedelai

Data yang diperoleh dari perlakuan pakan adalah penampilan produksi ayam broiler meliputi konsumsi pakan (g/ekor), pertambahan bobot badan (g/ekor), dan konversi pakan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan prosedur analisis ragam (*Analysis of Variance* /ANOVA) dengan taraf signifikansi 5%. Jika hasil analisis menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase

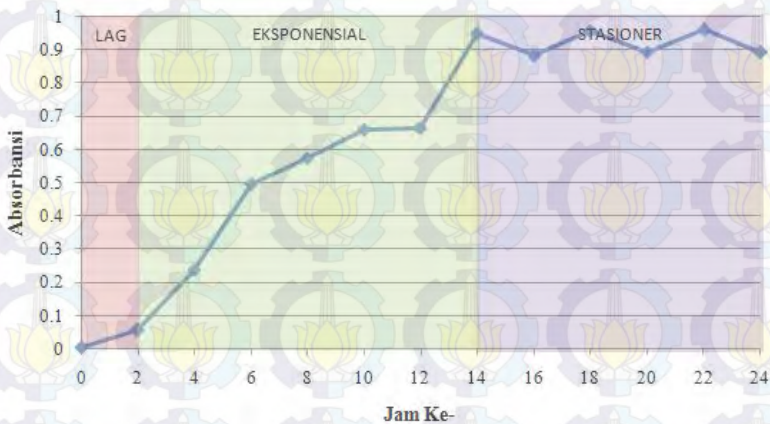
Produksi enzim keratinase dilakukan melalui teknik fermentasi oleh isolat *Bacillus* sp. SLII-I pada media *feather meal* (FM) yang mengandung bulu sebagai sumber karbon yang berupa keratin. Hasil fermentasi oleh isolat *Bacillus* sp. SLII-I pada media FM menunjukkan adanya perubahan secara visual pada tekstur bulu yang menjadi lembut dan warna bulu menjadi putih kekuningan setelah 24 jam inkubasi (Gambar 4.1) serta menimbulkan bau (aroma) khas yang menyengat. Perubahan tekstur terjadi akibat adanya hidrolisis protein sehingga membentuk tekstur halus dan remah (Deliani, 2008). Sedangkan, perubahan warna terjadi akibat adanya reaksi pencoklatan (*browning*) yang disebabkan aktifitas bakteri penghasil enzim oksidasi (Winarno, 2002). Degradasi protein dapat menghasilkan pepton, asam amino, unsur N serta komponen yang dapat menimbulkan bau busuk seperti NH_3 dan H_2S (Deliani, 2008).



Gambar 4.1 Fermentasi Bulu Ayam oleh isolat *Bacillus* sp. SLII-I pada media FM. A: Bulu Ayam Tanpa Fermentasi; B: Bulu Ayam setelah 24 Jam Fermentasi

Setelah produksi enzim keratinase melalui fermentasi, dilakukan isolasi enzim keratinase. Kurva pertumbuhan diperlukan untuk mengetahui waktu yang tepat untuk isolasi enzim keratinase. Kurva pertumbuhan Isolat *Bacillus* sp. SLII-I

pada media FM (Gambar 4.2) terdiri atas fase lag yang merupakan waktu adaptasi dari bakteri terhadap medium yang baru dilanjutkan dengan fase eksponensial yang dimana terjadi pertumbuhan mikroorganisme yang cepat akibat melimpahnya jumlah nutrisi. Fase stasioner merupakan fase selanjutnya yang dicirikan dengan hampir tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme karena nutrisi pada medium mulai menipis dan akumulasi produk sisa yang dapat menghambat pertumbuhan (Madigan *et al.*, 2012).



Gambar 4.2 Profil Pertumbuhan Isolat *Bacillus* SLII-I pada Media FM Produksi Enzim Keratinase

Pada Gambar 4.2 tampak fase lag terjadi dari jam ke-0 hingga jam ke-2 dan berlangsung singkat sebab inokulum *Bacillus* sp. SLII-I yang digunakan sebagai starter sebelumnya telah teraklimatisasi melakukan biosintesis keratinase (Lampiran 7). Fase eksponensial terjadi dari jam ke-2 hingga jam ke-14. Pada fase ini terjadi pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. SLII-I dengan memanfaatkan satu-satunya sumber karbon berupa keratin yang dihidrolisis menggunakan enzim keratinase. Fase eksponensial yang panjang menyebabkan akumulasi enzim keratinase semakin banyak. Pada jam ke-14 kultur mulai

memasuki fase stasioner. Pada fase stasioner tingkat pertumbuhan dan kematian *Bacillus* sp. SLII-I seimbang sehingga tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme. Produksi maksimum keratinase terjadi pada jam ke-14 ditunjukkan dengan peningkatan pertumbuhan *Bacillus* sp. SLII-I yang tinggi. Selama fase stasioner terjadi kenaikan dan penurunan populasi *Bacillus* sp. SLII-I secara berulang-ulang. Hal ini diduga berkaitan dengan pengaktifan gen *kerA* yang merupakan gen pengkode enzim keratinase (Lin *et al.*, 1995) yang akan diinduksi bila tersedia substrat spesifik keratin keratin (Kumar *et al.*, 2008). Pengaktifan gen *kerA* akan menghasilkan enzim ekstraseluler keratinase yang menghidrolisis keratin guna memenuhi kebutuhan sumber nutrisi karbon yang mulai menipis. Ketika kultur telah memasuki fase stasioner, isolasi enzim keratinase dilakukan sebab enzim keratinase terakumulasi secara maksimal di dalam media kultur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anitha dan Eswari (2012) yang menyatakan bahwa produksi enzim keratinase meningkat ketika memasuki fase stasioner. Isolasi enzim keratinase dilakukan menggunakan teknik sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit dimana terbentuk lapisan supernatan yang merupakan enzim keratinase kasar dan natan yang merupakan pelet *Bacillus* sp. akibat gaya sentrifugal.

4.2 Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase

Enzim merupakan molekul protein fungsional yang memiliki fungsi sebagai biokatalisator (Nelson dan Cox, 2004). Keratinase termasuk kelompok enzim kelas hidrolase yang mampu menghidrolisis keratin lebih efisien dibandingkan protease lainnya (Vigneshwaran *et al.*, 2010; Kanmani *et al.*, 2011). Hidrolisis keratin oleh keratinase menghasilkan asam amino dan peptida (Mousavi *et al.*, 2013) yang memiliki sifat larut air.

Enzim keratinase kasar yang diproduksi oleh isolat *Bacillus* SLII-I memiliki aktivitas keratinolitik sebesar 2,08 (mg/detik)/ml sementara kandungan proteinnya sebesar 6,6 mg/ml. Purifikasi parsial pada enzim keratinase kasar dilakukan dengan metode

presipitasi menggunakan penambahan garam ammonium sulfat pada berbagai tingkat kejenuhan sehingga menghasilkan fraksi-fraksi protein. Keratinase yang diperoleh setelah purifikasi adalah enzim yang lebih murni dengan aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan sebelum dilakukan purifikasi sebab tujuan utama dari pemurnian protein adalah untuk meningkatkan fungsional dari protein tersebut (Atmaja *et al.*, 2013). Presipitasi enzim menggunakan ammonium sulfat pada penelitian ini menghasilkan aktivitas dan kandungan protein tertinggi yaitu masing-masing sebesar 33,02 (mg/detik)/ml dan 20 mg/ml pada fraksi pemurnian 75-90% (Lampiran 8).

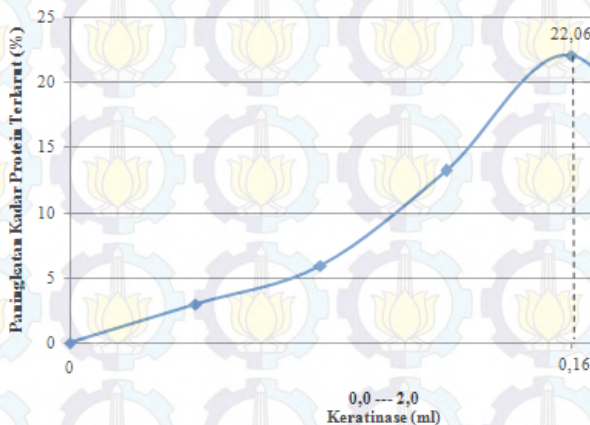
4.3 Tingkat Kadar Protein Terlarut Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam

Limbah bulu ayam yang belum diolah memiliki kadar protein kasar sebesar 98,68% (Supryadi *et al.*, 2000). Protein bulu ayam tergolong keratin yang memiliki daya cerna rendah (Joshi *et al.*, 2007). Enzim keratinase berperan dalam menghidrolisis keratin dan menghasilkan asam amino dan peptida (Mousavi *et al.*, 2013) yang secara tidak langsung mampu meningkatkan daya cerna dari limbah bulu ayam (Lee *et al.*, 1991).

Modifikasi enzimatik limbah bulu ayam dilakukan dengan mereaksikan secara langsung enzim keratinase dan tepung bulu ayam yang telah dilarutkan dalam larutan penyangga fosfat. Keratinase akan menghidrolisis keratin melalui pemutusan ikatan hidrogen dan disulfida sehingga menghasilkan asam amino dan peptida yang merupakan protein larut air yang siap diserap oleh tubuh (Ketaren, 2008). Peningkatan kadar protein terlarut hasil modifikasi enzimatik limbah bulu ayam ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Peningkatan kadar protein larut air tertinggi sebesar 22,06% terjadi pada inkubasi tepung bulu sebanyak 1 gram dengan keratinase sebanyak 0,16 ml. Hal tersebut diduga merupakan kondisi optimum dimana jumlah enzim keratinase sebanding dengan substrat keratin sehingga mampu menghidrolisis keratin

secara optimum dan menghasilkan kadar protein terlarut paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Gaman dan Sherrington (1992) menyatakan bahwa semakin banyak ikatan sistin disulfide dari keratin yang dapat diputuskan menjadi ikatan peptida sederhana selama proses hidrolisis maka semakin banyak pula protein yang dapat diserap oleh tubuh dan menghasilkan pertumbuhan. Kondisi optimum antara keratinase dan tepung bulu diaplikasikan dalam tahap modifikasi enzimatik limbah bulu yang akan dikonversi menjadi sumber protein alternatif dalam pakan ternak.

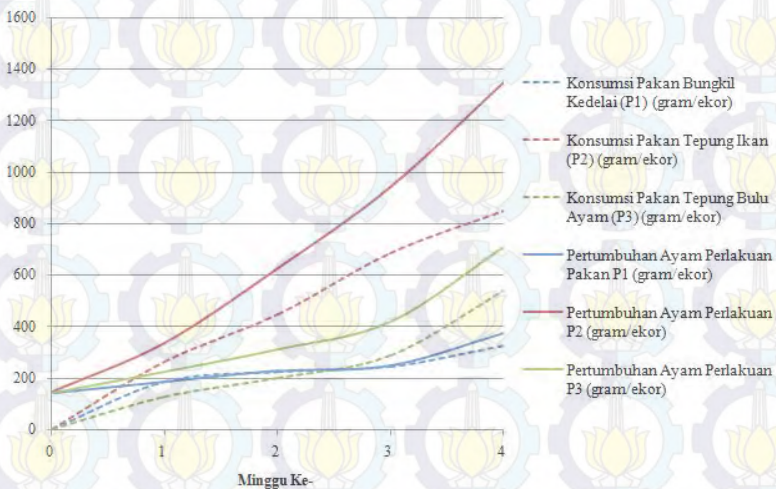


Gambar 4.3 Peningkatan Kadar Protein Terlarut Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam

4.4 Uji Biologis Pakan Ayam Terhadap Penampilan Produksi Ayam Broiler

Pakan merupakan salah satu unsur yang berpengaruh penting terhadap tampilan produksi ayam broiler dimana pakan yang berkualitas akan memberikan konversi pakan yang baik dan pertumbuhan yang cepat (Tamalludin, 2014). Tampilan produksi ayam broiler meliputi konsumsi pakan, pertumbuhan, dan konversi pakan (Rasyaf, 2002).

Konsumsi pakan dan pertumbuhan ayam broiler selama masa penelitian ditunjukkan pada Gambar 4.4 Konsumsi pakan dan pertumbuhan menunjukkan peningkatan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-4. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fadilah (2004) yang menyatakan bahwa konsumsi pakan ayam selalu meningkat dari minggu ke minggu. Peningkatan ini terjadi karena umur ayam bertambah dan membutuhkan suplai energi lebih banyak. Energi yang dikonsumsi oleh ayam digunakan untuk pertumbuhan jaringan tubuh, produksi, aktivitas, dan mempertahankan temperatur tubuh normal (Wahyu, 1992).



Gambar 4.4 Konsumsi Pakan dan Pertumbuhan Ayam Broiler (*G. domesticus*) Selama Masa Penelitian

Ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung bulu (P3) menunjukkan tingkat konsumsi pakan yang rendah pada minggu ke-1 dan minggu ke-2 lalu meningkat pada minggu ke-3 melebihi tingkat konsumsi ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung bungkil kedelai (P1). Hal ini disebabkan ayam broiler perlu beradaptasi dengan pakan yang mengandung tepung bulu dan memiliki tekstur dan rasa berbeda dari pakan komersial yang

diberikan sebelumnya. Ketika jenis pakan diganti secara tiba-tiba, nafsu makan ayam akan menurun dan pertumbuhan akan terhambat (Kartasudjana dan Suprijatna, 2006).

Pada Gambar 4.4 tampak adanya korelasi antara konsumsi pakan dan pertumbuhan ayam. Ayam broiler yang diberi perlakuan pakan tepung ikan (P2) menunjukkan pertumbuhan yang lebih cepat. Hal ini disebabkan ayam broiler mengkonsumsi pakan yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan pakan tepung bungkil kedelai (P1) dan tepung bulu ayam (P3). Konsumsi pakan mencerminkan jumlah nutrisi yang masuk ke dalam tubuh (Rasyaf, 1994). Pakan pakan dengan kandungan energi dan protein lebih tinggi akan menghasilkan efisiensi pakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pakan yang mengandung nutrisi lebih rendah (Tamalludin, 2014).

Hasil uji statistika *Anova-oneway* pada tingkat 95% dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* yang disajikan pada Tabel 4.1 menunjukkan terdapat pengaruh nyata ($P < 0,05$) perlakuan pakan dengan berbagai jenis sumber protein (P1, P2, dan P3) terhadap konsumsi pakan dan penambahan berat badan. Perlakuan pakan tepung bungkil kedelai (P1) memberikan pengaruh konversi pakan berbeda nyata ($P < 0,05$) dari pakan perlakuan tepung ikan (P2) dan tepung bulu ayam (P3). Akan tetapi, perlakuan pakan tepung ikan (P2) memiliki pengaruh konversi pakan yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dari perlakuan pakan tepung bulu (P3).

Tabel 4.1 Pengaruh Pakan terhadap Tampilan Produksi Ayam Broiler

Perlakuan	Konsumsi Pakan (gram /ekor)	Pertambahan Berat Badan (gram/ekor)	Konversi Pakan
Kontrol I: 42% bungkil kedelai (P1)	983,6 ^A	232,6 ^A	4,27 ^B
Kontrol II: 5% tepung ikan + 37% bungkil	2244,3 ^C	1203,0 ^C	1,86 ^A

kedelai (P2)			
Tepung bulu 5% + 37% bungkil kedelai (P3)	1194,8 ^B	567,0 ^B	2,11 ^A

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan.

Ayam yang diberi perlakuan pakan tepung ikan (P2) menunjukkan konsumsi pakan tertinggi sebesar 2244,3 gram/ekor. Ayam dengan perlakuan pakan tepung bulu ayam (P3) konsumsi pakan sebesar 1194,8 gram/ekor. Sedangkan, ayam yang diberi perlakuan pakan tepung bungkil kedelai (P1) menunjukkan konsumsi pakan terendah sebesar 983,6 gram/ekor. Tingkat konsumsi pakan yang berbeda ini dipengaruhi oleh keseimbangan kandungan zat-zat makanan dalam pakan (Ketaren, 2008). Konsumsi pakan menurun sesuai dengan penurunan protein kasar dan tingkat ketidakseimbangan asam amino esensial (Burman dan Burgess, 1986; Trisiwi *et al.*, 2004; Ketaren, 2008).

Ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2) memiliki tingkat konsumsi yang tinggi sebab tepung ikan memiliki kualitas protein dan asam yang lebih baik dibandingkan dengan tepung bungkil kedelai dan tepung bulu ayam. Tepung ikan mengandung asam amino esensial lisin dan metionin yang tinggi (Rahman, 2002) sedangkan tepung bungkil kedelai memiliki asam amino metionin (Ketaren, 2008) yang rendah. Tepung bulu ayam kaya akan kandungan asam amino leusin, isoleusin, dan valin yang tinggi namun kandungan asam amino triptofan dan metionin rendah (Ketaren, 2008). Metionin merupakan asam amino pembatas utama pada unggas, lisin sebagai asam amino pembatas kedua, dan treonin sebagai pembatas ketiga (Trisiwi *et al.*, 2004). Kekurangan salah satu unsur asam amino esensial akan mengakibatkan konsumsi pakan yang rendah dan pertumbuhan yang terhambat.

Ayam broiler yang diberi perlakuan pakan tepung ikan (P2) menunjukkan pertambahan berat badan tertinggi sebesar 1203,0

gram/ekor. Hal ini disebabkan tingginya tingkat konsumsi pakan ayam broiler yang mencapai 2244, 3 gram/ekor. Konsumsi pakan yang tinggi menyebabkan lebih banyak protein dan energi yang tersedia untuk pertumbuhan. Pertumbuhan ayam broiler sangat dipengaruhi oleh protein (Anggorodi, 1994) dimana pakan dengan kadar protein tinggi mendukung pertumbuhan yang cepat (Amrullah, 2004). Pakan perlakuan tepung bungkil kedelai (P1) dan tepung bulu ayam (P2) memberikan pengaruh yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2) karena ayam broiler mengkonsumsi pakan lebih sedikit sehingga energi dan protein yang masuk kedalam tubuh untuk keperluan pertumbuhan rendah.

Pertumbuhan dipengaruhi oleh kualitas protein dalam pakan. Kualitas protein pada dasarnya ditentukan oleh komposisi asam amino dan daya serapnya. Hasil analisis nutrisi (Lampiran 9) menunjukkan bahwa tepung bungkil kedelai memiliki kadar protein yang paling rendah sebesar 54,0% sehingga menyebabkan pertumbuhan yang paling rendah. Sementara itu, tepung bulu ayam memiliki kadar protein paling tinggi sebesar 82,0% namun tidak menghasilkan pertumbuhan yang cukup baik. Hal ini disebabkan oleh kandungan protein keratin yang memiliki daya serap yang rendah sehingga tidak menghasilkan pertumbuhan ayam yang optimum. Tepung ikan memiliki kadar protein sebesar 57,9%. namun mampu menghasilkan pertumbuhan paling besar karena tepung ikan diduga memiliki daya serap yang lebih tinggi dibandingkan dengan tepung bulu ayam. Daya serap protein pakan yang rendah menyebabkan ayam tidak tumbuh dengan normal akibat pertambahan berat badan yang menurun (Siregar *et al.*, 1989).

Konversi pakan merupakan tolak ukur utama dalam menentukan keberhasilan produksi ayam broiler (Tamalludin, 2014). Pakan perlakuan tepung bungkil kedelai (P1) memberikan pengaruh konversi pakan terendah sebesar 4,27. Hal ini disebabkan oleh jumlah konsumsi pakan yang tinggi dan rendahnya pertambahan berat badan. Ayam broiler kurang

mampu menggunakan pakan tepung bungkil kedelai (P1) secara efisien untuk pertumbuhan. Sementara itu, perlakuan pakan tepung ikan (P2) memberikan pengaruh konversi pakan terbesar sebesar 1,86. Hal ini disebabkan jumlah konsumsi pakan yang tinggi namun diiringi pula dengan penambahan berat badan yang tinggi. Hal ini menyebabkan konversi pakan sesuai standar yang anda. Menurut Tamalludin (2014) nilai FCR (*food conversion ratio*) yang ideal untuk pemeliharaan ayam pedaging hingga umur 35 hari adalah 1,736.

Perlakuan pakan tepung bulu (P3) menunjukkan pengaruh konversi pakan sebesar 2,11 yang secara statistik menunjukkan tingkat efisiensi pakan terhadap penambahan berat badan yang sama dengan perlakuan pakan tepung ikan (P1). Konversi pakan yang tinggi ini dipengaruhi oleh kandungan zat gizi dalam pakan yang baik dan efisien dimana kandungan zat gizi tersebut diserap oleh tubuh dan diekspresikan dengan penambahan berat badan (Ketaren, 2008). Akan tetapi, ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung bulu (P3) memiliki nilai penambahan berat badan yang rendah dibandingkan dengan perlakuan pakan mengandung protein tepung ikan. Hal ini disebabkan ayam broiler mengkonsumsi pakan yang lebih rendah pula sehingga protein dan energi yang tersedia untuk pertumbuhan rendah pula meski menghasilkan nilai konversi pakan yang baik dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2). Perbedaan tingkat konsumsi pakan ini diduga disebabkan oleh tekstur, rasa, dan aroma dari tepung bulu yang kurang disukai oleh ayam broiler sehingga konsumsi pakan menjadi rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anggorodi (1985) yang menyatakan ada pengaruh tingkat kesukaan makan (palatibilitas) terhadap konsumsi pakan dan penambahan berat badan, sehingga secara tidak langsung mempengaruhi konversi pakan.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

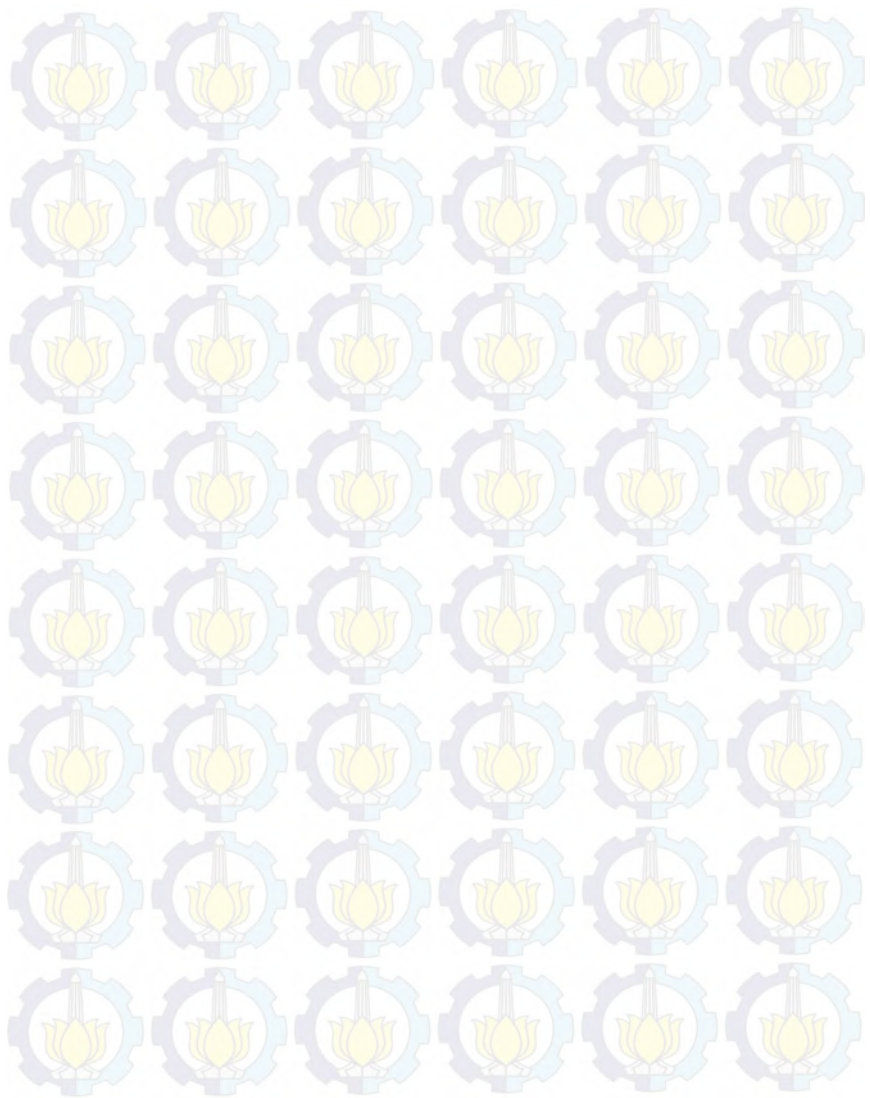
5.1 Kesimpulan

Bacillus sp. SLII-I dapat menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2,08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22,06%. Penggunaan tepung bulu ayam hingga 5% dalam pakan mampu menggantikan sumber protein konvensional tepung bungkil kedelai dengan tampilan produksi ayam broiler yang lebih tinggi namun belum dapat menggantikan sumber protein konvensional tepung ikan yang menghasilkan pertumbuhan dan konsumsi pakan yang lebih tinggi. Pakan mengandung tepung bulu ayam memiliki efisiensi pakan yang sama dengan pakan mengandung tepung ikan dalam menghasilkan pertumbuhan.

5.2 Saran

Formulasi pakan ayam broiler sebaiknya memiliki nilai protein dan asam amino seimbang agar tampilan produksi ayam broiler baik. Protein nabati tidak mengandung asam amino yang lengkap sehingga perlu dikombinasikan dengan sumber protein hewani untuk menghasilkan asam amino yang sesuai dengan kebutuhan ayam. Penggunaan tepung bulu ayam sebagai sumber protein dalam pakan memerlukan kombinasi dengan bahan pakan sumber protein lain seperti tepung ikan untuk menghasilkan nilai konsumsi pakan dan pertumbuhan yang sesuai standar.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



DAFTAR PUSTAKA

Abidin, Z. 2002. **Meningkatkan Produktivitas Ayam Ras Pedaging**. Jakarta: Agromedia.

Acda M.N. 2010. Waste chicken feather as reinforcement in cementbonded composites. **Philippine Journal of Science** 139: 161–166.

Adiati, U., W. Puastuti, and Mathius. 2002. **Eksplorasi Potensi Produk Samping Rumah Potong Bulu dan Darah sebagai Bahan Pakan Pangan Imbuhan Pascarumen**. Laporan Penelitian Balai peternakan Ternak Ciawi, Bogor.

Agrahari, S. 2013. Production Of Extracellular Keratinase Enzymes From *Bacillus Pumilis* Sn3 Isolated From Soil Sample Of Ghazipur Poultry Waste Site. **Special Issue of International Journal of Sustainable Development and Green Economics (IJSDEG)**. ISSN No.: 2315-4721, V-2, I-1, 2, 2013.

Agrahari, S. and Wadha, N. 2010. Degradation of Chicken Feather a Poultry Waste Product by Keratinolytic Bacteria Isolated from Dumping Site at Ghazipur Poultry Processing Plant. **International Journal of Poultry Science** 9:482-489

Alexandre, J.M., O.B. Walter, G. Renata, D. David, P.H. JoaoAntonio and T. Carlos. 2005. Novel keratinase from *Bacillus subtilis* S14 exhibiting remarkable dehairing capabilities. **Appl. Environ. Microbiol.** 71:594-596

Ali, T.H., Nadia H. A., and Latifa A. M. 2011. Production, Purification and Some Properties of Extracellular Keratinase from Feathers-Degradation by *Aspergillus oryzae* NRRL-447. **Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation**. 6: 123-136

Amrullah, I. K. 2004. **Manajemen Ternak Ayam Broiler**. Bogor: IPB-Press

Anbu, P., A. Hilda, H.W. Sur, B.K. Hur and S. Jayanthi, 2008. Extracellular keratinase from *Trichophyton* sp. HA-2 isolated from feather dumping soil. **Int. Biodeterior. Biodegrad** 62: 287-292.

Anggorodi, R. 1985. **Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas**. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

Anggorodi, R. 1994. **Ilmu Makanan Ternak Umum**. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

Anggorodi, H. R. 1990. **Kemajuan Mutakhir Dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas**. Jakarta: Universitas Indonesia Press

Anitha, A. and R. Eswari. 2012. Impact of Newly Isolated *Bacillus megaterium* (A1) on Degradation of Feather Waste. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**. 1. 212-221.

Atlas, R.M. and Bartha, R. 1987. **Microbial Ecology, Fundamental and Application, 2nd edition**. California: The Benjamin Cumming Publishing Company, Inc.

Atmaja, D.S., Wuryanti, and K. Anam. 2013. Isolasi, purifikasi, dan Karakterisasi α -Amilase dari *Trichoderma viride* FNCC 6013. **Chem Info** 1:85-93

Balaji S., M. S. Kumar, and R. Karthikeyan. 2008. Purification and Characterization of An Extracellular Keratinase from A Hornmeal-Degrading *Bacillus subtilis* MTCC (9102). **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24: 2741–2745

Holt, J.G and N.R. Krieg. 2000. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition**. United States of America: Williams and Wilkins.

Bockle, B., B. Galunski and R. Muller, 1995. Characterization of a keratinolytic serine protease from *Streptomyces pactum* DSM40530. **Appl. Environ. Microbiol.** 61: 3705-3710.

Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry** 72:248-254

Burman, K.N. and A.D. Burgess. 1986. Responses to Amino Acid. Nutrient Requirements of poultry and Nutritional Research. **Poultry Sci.** Symposium Kent TN 15.

Cabel, M.C., T.L Goodwin, and P.W. Waldroup. 1988. Feather Meal As A Nonspecific Nitrogen Source For Abdominal Fat Reduction in Broiler During the Finishing Period. **Poultry Sci** 63: 300-306

Cai CG, Lou BG, and Zheng XD. 2008. Keratinase production and keratin degradation by a mutant strain of *Bacillus subtilis*. **J Zhejiang Univ Sci B.** 9: 60–7.

Cai, C. and X. Zheng. 2009. Medium optimization for keratinase production in hair substrate by a new *Bacillus subtilis* KD-N2 using response surface methodology. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** 36: 875-883.

Cheng, S.W., H.M. Hu, S.W. Shen, H. Takagi, M. Asano and Y.C. Tsai, 1995. Production and characterization of keratinase of a feather-degrading *Bacillus licheniformis* PWD-1. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 59: 2239-2243.

Claus, D. and Berkeley RCW. 1986. **Genus Bacillus**. in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: The Williams and Wilkins Co.

Deliani. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein, Lemak, Komposisi Asam Lemak dan Asam Fitat Pada Pembuatan Tempe. **Tesis**. Medan: Universitas Sumatera Utara.

DeToni, C.H., M.F. Richter, J.R. Chagas, J.A. Henriques and C. Termignoni. 2002. Purification and characterization of an alkaline serine endopeptidase from a feather degrading *Xanthomonas maltophilia* strain. *Can. J. Microbiol.* 48: 342-348.

Esawy MA. 2007. Isolation and partial characterization of extracellular keratinase from a novel mesophilic *Streptomyces albus* AZA. **Res J Agric Biol Sci.** 3:808–17.

Essien, J.P., A.A. Umoh, E.J. Akpan, S.I. Eduok and A. Umoiyo, 2009. Growth, keratinolytic proteinase activity and thermotolerance of dermatophytes associated with alopecia in Uyo, Nigeria. **Acta Microbiologica Et Immunologica Hungarica** 56: 61- 69.

Fadilah, R. 2004. **Kunci Sukses Beternak Ayam Broiler Daerah Tropis**. Jakarta: Agromedia Pustaka

Gaman, P.M. and K.B. Sherrington. 1992. **Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Gessesse, A., H.K. Rajni, B.A. Gashe and Bo Mattiasson. 2002. Novel alkaline proteases from alkaliphilic bacteria grown on chicken feather. **Enzyme Microbial. Technol.** 6250, 1-6.

Han, M., W. Luo., Q. Gu., and X. Yu. 2012. Isolation And Characterization Of A Keratinolytic Protease From A Feather-Degrading Bacterium *Pseudomonas Aeruginosa* C11. **African Journal of Microbiology Research** 6: 2211-2221.

Hanifah A., 2010. **Taksonomi Ayam**. Fakultas Pertanian Jurusan Peternakan UNS.

Harrar, B.S. and E.F. Woods. 1963. Soluble Derivatives of Feather Keratin 1. Isolation, fractionation and amino acid composition. **Biochemistry Journal** 92: 8-18.

Ignatova, Z., A. Gousterova, G. Spassov and P. Nedkov. 1999. Isolation and partial characterization of extracellular keratinase from a wool degrading thermophilic actinomycete strain *Thermoactinomyces candidus*. Can. **J. Microbiol.** 45: 217-222.

Joshi, S.G., M.M. Tejashwini, N. Revati, R. Sridevi and D. Roma., 2007. Isolation, Identification and Characterization of a feather degrading bacterium. **International journal of poultry science** 6:689-693

Kaluzewska, M., K. Wawrzekiewicz and J. Lobarzewski. 1991. Microscopic Examination of Keratin Substrates Subjected to the Action of the Enzymes of *Streptomyces fradiae*. **Int. Biodeterioration** 27. 11-26.

Kamal, M.A. 1985. Pemanfaatan Bulu Ayam sebagai Pengganti Tepung Ikan dalam Ransum Ayam Pedaging dan Petelur. **Laporan Penelitian**. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Kanmani P, Karuppasamy P, Pothiraj C. and Venkatesan A. 2011. Studies On Lignocellulose Biodegradation of Coir Waste in Solid State Fermentation Using *Phanerocheate chrysosporium* and

Rhizopus stolonifer. **African Journal of Biotechnology** 8:6880-6887.

Kartadisastra, H. R. 1994. **Pengelolaan Pakan Ayam Kiat Meningkatkan Keuntungan Agribisnis Unggas**. Yogyakarta: Kanisius.

Kartasudjana, R. and Edjeng S. 2006. **Manajemen Ternak Unggas**. Jakarta: Penebar Swadaya.

Ketaren, S. 2008. **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**. Jakarta: UI Press.

Khardenavis A. A., A. Kapley, and H. J. Purohit. 2009. Processing of poultry feathers by alkaline keratin hydrolyzing enzyme from *Serratia* sp. HPC 1383. **Waste Management** 29:1409–1415.

Krempak L., J. Doucet, and F. Briki. 2004. New aspects of the α -helix to β -sheets transition in stretched hard α -keratin fibers. **Biophysics Journal** 87: 640-647.

Kumar, A.G., S. Swarnalatha, S. Gayathri, N. Nagesh and G. Sekaran, 2008. Characterization of an alkaline active-thiol forming extracellular serine keratinase by the newly isolated *Bacillus pumilus*. **J. Appl. Microbiol.** 104: 411-419.

Laskhmi P.J., Ch. M. K. Chitturi, and V. V. Lakshmi. 2013. Efficient Degradation of Feather by Keratinase Producing *Bacillus* sp. **International Journal of Microbiology**.

Lee, C.G., P.R. Ferket and J.C.H. Shih. 1991. Improvement of feather digestibility by bacterial keratinase as a feed additive. **FASEB J.** 59: 1312

Lin X, Kelemen DW, Miller ES, and Shih JCH. 1995. Nucleotide sequence and expression of kerA, the gene encoding a keratinolytic protease of *Bacillus licheniformis* PWD-1. **Appl. Environ. Microbiol.** 61: 1469-1474.

Lin X., C. G. Lee, E. S. Casale, and J. C. H. Shih. 1992. Purification and characterization of a keratinase from a feather-degrading *Bacillus licheniformis* strain. **Applied and Environmental Microbiology** 58:3271–3275.

Lin, X., Tang, J., Koelsch, G., Monod, M. and Foundling, S. 1993. Recombinant, Canditropsin, an extracellular aspartic protease from yeast *Candida tropicalis*. **J. Biol. Chem.** 268: 20143–20147.

Mabrouk, M.E.M. 2008. Feather degradation by a new keratinolytic *Streptomyces* sp. MS-2. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24: 2331–2338

Macedo, A.J., W.O. Da Silva, R. Gava, D. Driemeier, J.A. Henriques and C. Termignoni, 2005. Novel keratinase from *Bacillus subtilis* S14 exhibiting remarkable dehairing capabilities. **Appl. Environ. Microbiol.** 71: 594-596.

Madigan, MT., John M.M., David A.S., and David P.C. 2012. **Biology of Microorganisms 3rd Edition**. San Francisco: Pearson Education, Inc.

Marcondes N. R., C. L. Taira, D. C. Vandresen, T. I. E. Svidzinski, M. K. Kadowaki, and R. M. Peralta. 2008. New feather-degrading filamentous fungi. **Microbial Ecology** 56:13–17.

Matikevičienė, V., D. Masiliūnienė, and S. Grigiškis. 2009. Degradation Of Keratin Containing Wastes By Bacteria With

Keratinolytic Activity. **Proceedings of the 7th International Scientific and Practical Conference.** Rēzeknes Augstskola, Rēzekne, RA Izdevniecība, 2009.

Mazotto, A. M., R. R. R. Coelho, S. M. L. Cedrola, M.F. de Lima., S. Couri, E. P. de Souza, and A. B. Vemelho. 2011. Keratinase Production by Three *Bacillus* spp. Using Feather Meal and Whole Feather as Substrate in a Submerged Fermentation. **Enzyme Research.**

Morris, W. C, and S. L. Balloun, 1973. Effect of processing methods on utilization of feather meal by broiler chicks. **Poultry Sci.** 52:858-866.

Mousavi, S., M. Salouti, R. Shapoury, and Z. Heidari. 2013. Research Article: Optimization of Keratinase Production for Feather Degradation by *Bacillus subtilis*. **Jundishapur J Microbiol.** October 6: 7160.

Nelson, D.L. and Cox M.M. 2004. **Lehninger Principles of Biochemistry.** New York: Oxford Uni Press.

Parakkasi, A. 1983. **Ilmu Gizi dan Makanan Ternak Monogastrik.** Bandung: Angkasa.

Pillai, P. and G. Archana, 2008. Hide depilation and feather disintegration studies with keratinolytic serine protease from a novel *Bacillus subtilis* isolate. **Appl. Microbiol. Biotechnol** 78: 643-650.

Pissuwan D, Stella M. Valenzuela, and Michael B. Cortie. 2008. Prospects for Gold Nanorod Particles in Diagnostic and Therapeutic Applications. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews.** 25. 93-112.

Poole, A.J., J.S Church and M.G. Huson. 2009. Environmentally sustainable fibers from regenerated protein. **Biomacromolecules** 10: 1-8.

Poovendran, P. Venkitasamy K., Vidhya K.K., E. Jamuna R., and Eliyaperumal P. 2011. A study of feather keratin degradation by *Bacillus licheniformis* and quantification of keratinase enzyme produced. **J. Microbiol. Biotech. Res** 1(3):120-126

Pratikno, H. 2010. Pengaruh Ekstrak Kunyit (*Curcuma Domestica* Vahl.) Terhadap Bobot Badan Ayam Broiler (*Gallus* sp.). **Buletin Anatomi dan Fisiologi** Vol. XVIII No.2

Rahman, N. 2002. Pemanfaatan Hidrolisat Protein Bulu Ayam sebagai Konstituen Formula Pkana Ayam Pedaging Masa Finisher. **Tesis**. Malang: Universitas Brawijaya.

Rasyaf, M. 1992. **Pengelolaan Peternakan Unggas Pedaging**. Yogyakarta: Kanisius.

Rasyaf, M. 1994. **Beternak Ayam Pedaging**. Jakarta: Penebar Swadaya.

Rasyaf, M., 1995. **Beternak Ayam Pedaging**. Jakarta: Penebar Swadaya.

Rasyaf, M. 2002. **Beternak Ayam Pedaging**. Jakarta: Penebar Swadaya.

Riffel, A. and A. Brandelli. 2006. Keratinolytic Bacteria Isolated From Feather Waste. **Brazilian Journal of Microbiology** 37: 395-399.

Saravanan K. 2012. Exploration Amino Acid Content and Morphological Structure in Chicken Feather Fiber.

Sastry, T.P., P.K. Sehgal, B. Gupta and Mahendra Kumar. 1986. Solublised keratins as a Novel filler in the retaining of upper leather. **Leather Science** 33:345-359.

Schmidt, W.F. 2002. **Microcrystalline keratin: from feathers to composite products**. Proceeding Material Research Symposium. December 2-6. Boston: In Wallenberger FT, Weston NE, Ford R, Wool RP, Chawla K. (Eds).

Siregar, A.P., M. Sabrani, and S. Pramu. 1989. **Teknik Berternak Ayam Pedaging di Indonesia**. Jakarta: Margie Group.

Sitompul S. 2004. Analisis Asam Amino dalam Tepung Ikan dan Bungkil Kedelai. **Buletin Teknik Pertanian** 9: 33-37.

Steiner, R. J., R. O. Kellems, and D. C. Church, 1983. Feather and hair meals for ruminants. IV. Effects of chemical treatments of feathers and processing time on digestibility. **J. Anim. Sci.** 57: 495–502.

Supriyati, T. Purwadinata, and I. P. Kompiang. 2000. Produksi mikroba terseleksi pemecah keratin pada bulu ayam skala laboratorium. **Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner**. Bogor: Balai Penelitian Ternak.

Syed, D.G., J.C. Lee, W.J. Li, C.J. Kim and D. Agasar, 2009. Production, characterization and application of keratinase from *Streptomyces gulbargensis*, **Bioresour. Technol** 100: 1868-1871.

Tamalludin, F. 2014. **Ayam Broiler**. Penebar Swadaya. Jakarta.

Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo, and S. Lebdoesoekojo. 1991. **Ilmu Makanan Ternak Dasar**.

Yogyakarta.: Gadjah Mada University Press. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada.

Trisiwi, H. F., Zuprizal, and Supadmo. 2004. Pengaruh Level Protein dengan Koreksi Asam Amino Esensial dalam pakan terhadap Penampilan dan Nitrogen Ekskreta Ayam Kampung. **Buletin Peternakan** 28: 131-141

Vigneshwaran C, Shanmugam S, and Sathish Kumar T. 2010. Screening and Characterization of Keratinase from *Bacillus licheniformis* Isolated from Namakkal Poultry Farm.

Voet D and Voet J.G. 1995. **Three Dimensional Structure of Proteins, in Biochemistry, 2nd edn.** edited by J Stiefel. Wiley: New York., 154-156.

Wahyu, J. 1997. **Ilmu Nutrisi Unggas.** Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.

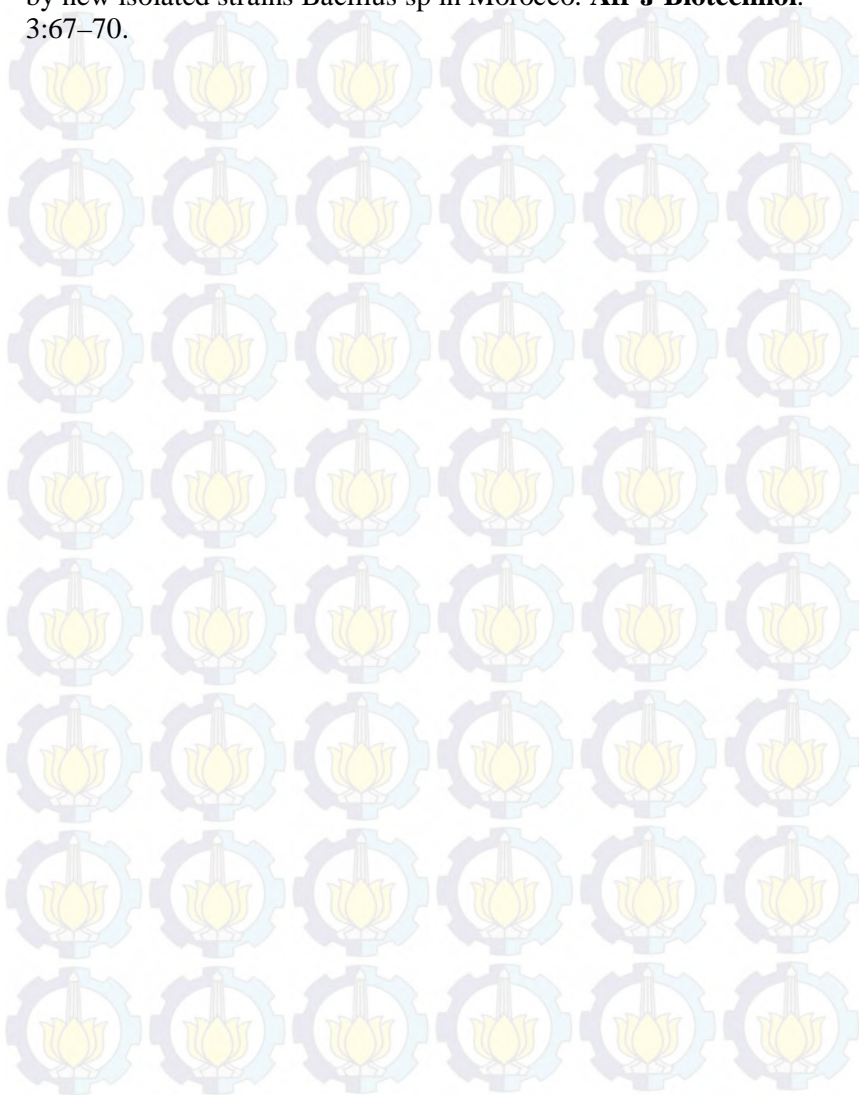
Ward, W.H., Binkley C.H. and Snell S.N. 1955. Amino acid composition of normal wools, wool fractions, mohair, feather, and feather fractions. **Feather Textile Research Journal** 25, 314-325.

Williams, C. M., C. G. Lee, J. D. Garlich, and J. C. H. Shih. 1991. Evaluation of a Bacterial Feather Fermentation Product, Feather-Lysate, as a Feed Protein. **Poultry Science** 70: 85-94.

Winarno, F.G. 1992. **Kimia Pangan dan Gizi.** Jakarta: Gramedia.

Zang, Bin, Zhong-wei S., Dan-dan J. and Tian-gui N. 2009. Isolation and Purification of Alkaline Keratinase From *Bacillus* sp. 50-3. **African Journal of Biotechnology**. 8: 2598-2603

Zerdani I, Faid M, and Malki A. 2004. Feather wastes digestion by new isolated strains *Bacillus* sp in Morocco. **Afr J Biotechnol.** 3:67–70.



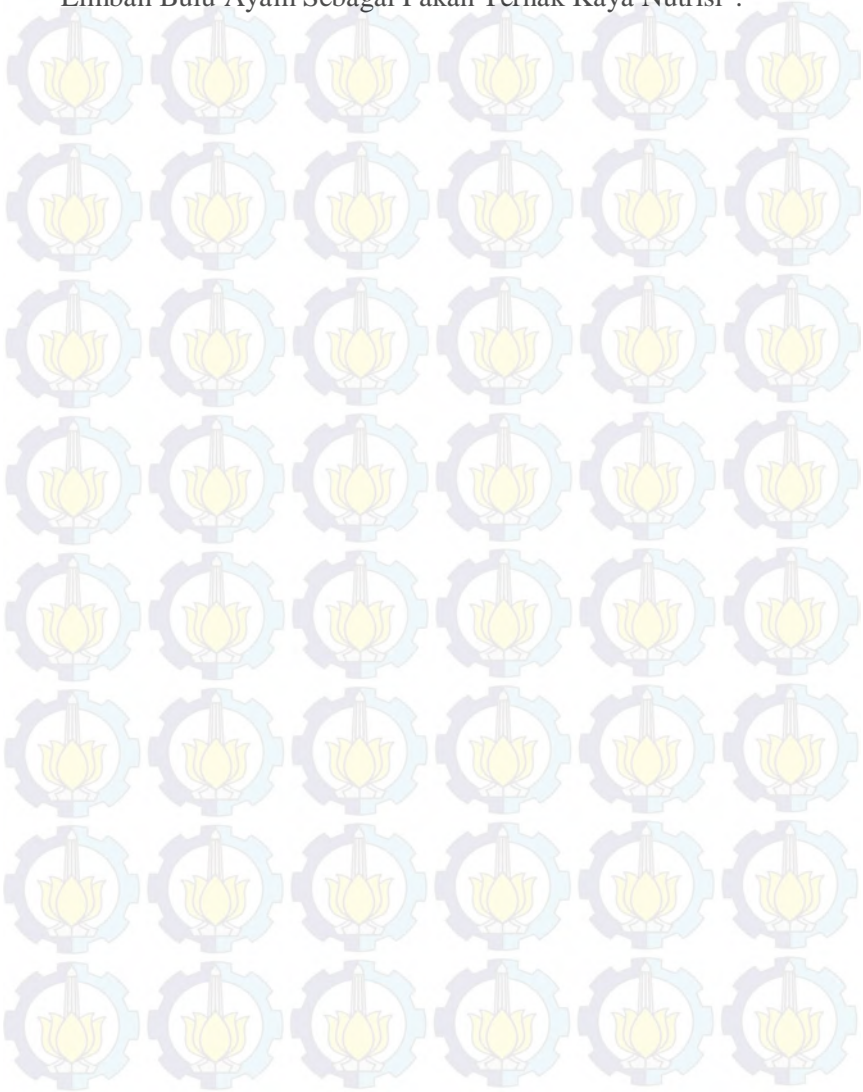
BIODATA PENULIS



Ditya Larasati yang akrab disapa dengan nama Laras dilahirkan di Banda Aceh pada tanggal 13 Januari 1993 sebagai anak pertama, pasangan Tjahjo Harsojo dan Theresia Puspita. Penulis memulai pendidikan dasar di Sekolah Dasar Sawojajar VII dan melanjutkan pendidikan di MTsN Malang I lalu di SMAN 3 Malang. Ketertarikannya pada dunia Biologi mulai terlihat dengan pilihan penulis mengambil kelompok kelas IPA. Pada tahun 2011 penulis lulus dari SMA Negeri 3 Malang. Pada tahun yang sama penulis lulus seleksi masuk ITS melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri Tulis. Penulis memilih Jurusan Biologi FMIPA ITS.

Selama kuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember, penulis pernah bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi ITS sebagai Tim Soal Olimpiade Big Event BOF VI. Penulis juga sempat menjadi asisten praktikum beberapa mata kuliah seperti Biologi Umum, Struktur Hewan, Biokimia, Mikrobiologi, dan Fisiologi Hewan. Pada tahun 2014, penulis mengambil kerja praktek selama tiga bulan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia dan berhasil menyelesaikan kerja prakteknya dengan judul “Pengaruh Jenis Media dan Intensitas Cahaya Terhadap Kesintasan *Dendrobium capra* J. J. Sm Pada Tahap Aklimatisasi”. Ketertarikan penulis pada dunia Bioteknologi, Mikrobiologi, dan Zoologi mendorong penulis untuk menerima

Proyek Tugas Akhir yang berjudul “Modifikasi Enzimtaik Limbah Bulu Ayam Sebagai Pakan Ternak Kaya Nutrisi”.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan Media NA 1 L dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Nutrient Agar (NA) sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 1 liter akuades kemudian dipanaskan hingga suhu 100°C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larut.
2. NA sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm.
3. Tabung berisi NA yang telah steril diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan memadat

Lampiran 2. Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan Media NB 1 L dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 13 gram dilarutkan dalam 1 liter akuades dan dipanaskan hingga suhu 100°C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larut.
2. NB dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm.

Lampiran 3. Media *Feather Meal Broth* (FMB)

Pembuatan Media FMB 1 L dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Beef extract 3 gram, NaCl, 0,5 gram, K_2HPO_4 0,3 gram, KH_2PO_4 0,4 gram and tepung bulu 10 gram dilarutkan dalam 1 liter akuades dan dipanaskan hingga suhu $100^{\circ}C$ sambil diaduk diatas magnetic stirer sampai larut. Medium pH 7.0 diatur dengan penambahan HCL dan NaOH.
2. NB dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu $121^{\circ}C$ dan tekanan 1,5 atm.

Lampiran 4. Media *Feather Meal* (FM)

Pembuatan Media FM 1 L dilakukan dengan cara sebagai berikut:

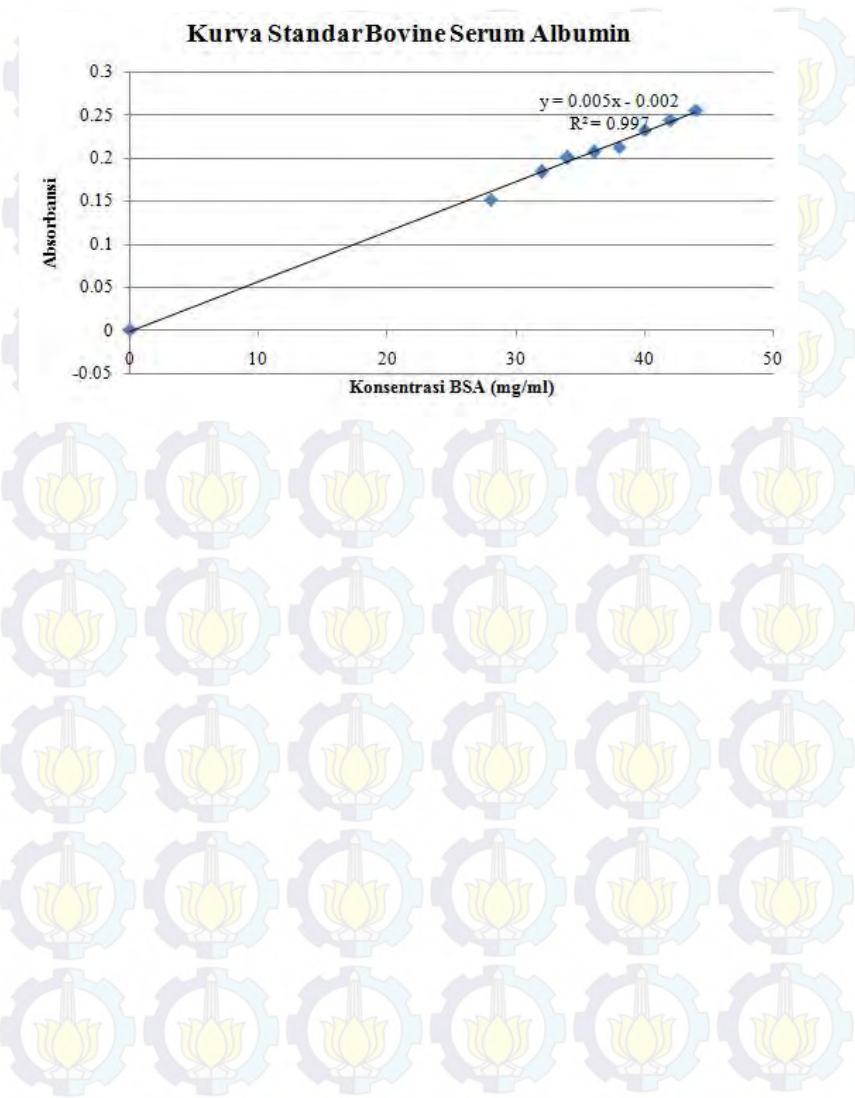
1. NaCl, 0,5 gram, K_2HPO_4 0,3 gram, KH_2PO_4 0,4 gram and tepung bulu 10 gram. Medium pH 7,5. Dilarutkan dalam 1 liter akuades dan dipanaskan hingga suhu $100^\circ C$ sambil diaduk diatas magnetic rlenme sampai larut.
2. NB dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 1,5 atm

Lampiran 5. Larutan Penyangga Fosfat (pH 7,0-7,2)

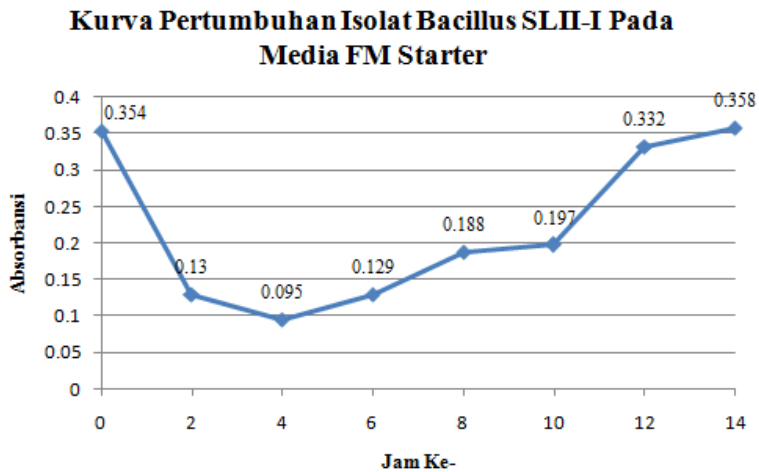
Pembuatan Larutan Penyangga Fosfat (pH 7,0-7,2) dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Stok buffer basa Na_2HPO_4 0,067 M dibuat dengan cara melarutkan 9,5 gram Na_2HPO_4 dalam 1 liter akuades.
2. Stok buffer asam NaH_2PO_4 0,067 M dibuat dengan cara melarutkan 9,2 gram NaH_2PO_4 dalam 1 liter akuades.
3. Larutan penyangga fosfat pH 7,0-7,2 dibuat dengan mencampurkan buffer basa Na_2HPO_4 0,067 M sebanyak 61 ml dan buffer asam NaH_2PO_4 0,067 M sebanyak 39 ml lalu dilarutkan dalam 900 ml akuades.

Lampiran 6. Kurva Standar Bovine Serum Albumin



Lampiran 7. Kurva Pertumbuhan Isolat Bacillus SLII-I Pada Media FM Starter



Lampiran 8. Tabel Pengamatan Aktivitas dan Kandungan Protein Enzim Keratinase

1. Aktivitas Keratinase

	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi	Protein Terlarut (mg/ml)	Uji Aktivitas Enzim (mg/detik)/ml enzim
	U1	U2	U3			
Kontrol	0,003	0,004	0,005	0,00	1,20	1,04
Enzim Kasar	0,018	0,017	0,014	0,02	3,67	3,19
Fraksi I	0,011	0,009	0,008	0,01	2,27	1,97
Fraksi II	0,157	0,158	0,158	0,16	31,93	27,75
Fraksi III	0,186	0,187	0,189	0,19	37,87	32,90
Fraksi IV	0,181	0,184	0,184	0,18	37,00	32,15
Fraksi V	0,193	0,196	0,194	0,19	39,27	34,12

2. Kandungan Protein Keratinase

	Absorbansi			Kandungan Protein (mg/ml)
	U1	U2	U3	
Enzim Kasar	0,031	0,031	0,031	6,60
Fraksi I	0,017	0,011	0,019	4,20
Fraksi II	0,022	0,025	0,034	7,20
Fraksi III	0,118	0,115	0,0107	2,54
Fraksi IV	0,061	0,051	0,045	9,40
Fraksi V	0,1	0,099	0,095	19,40

Lampiran 9. Analisa Kadar Nutrisi Bungkil Kedelai, Tepung Ikan, dan Tepung Ikan

Kadar Nutrisi	Tepung Ikan		Rata	Tepung Bungkil Kedelai		Rata	Tepung Bulu Ayam		Rata
	U1	U2		U1	U2		U1	U2	
Air (%)	17,4	18,8	18,1	12,5	12,7	12,6	12,9	13,3	13,1
Abu (%)	21,7	21,1	21,4	6,2	6,2	6,2	3,3	3,0	3,2
Protein (%)	58,1	57,7	57,9	53,9	54,1	54,0	82,1	81,9	82,0
Lemak (%)	2,4	2,4	2,4	1,5	1,3	1,4	1,7	1,8	1,7
Karbohidrat (%)	0,4	0,0	0,2	25,9	25,7	25,8	0,0	0,0	0,0
Energi (Kkal/kg)	2558,4	2522,1	2540,3	3324,9	3309,7	3317,3	3433,0	3438,8	3435,9

Lampiran 10. Tabel Pengamatan Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam

1. Studi Pendahuluan untuk Menentukan Enzim dengan Aktivitas Tinggi

Enzim (ml)	Bulu (g)	Buffer (ml)	Absorbansi			Rata	Protein Terlarut	Uji Aktivitas Enzim (mg/detik)(ml enzim)	Peningkatan Kadar Protein Terlarut (%)
			U1	U2	U3				
0,00	1,00	160,00	0,23	0,23	0,23	0,23	45,80	0,00	0,00
0,20	1,00	160,00	0,25	0,25	0,26	0,25	51,00	2,89	11,35
0,40	1,00	160,00	0,27	0,27	0,26	0,27	53,60	1,09	17,03
0,60	1,00	160,00	0,26	0,26	0,27	0,26	53,20	0,47	16,16
0,80	1,00	160,00	0,27	0,27	0,27	0,27	54,80	0,31	19,65
1,00	1,00	160,00	0,25	0,26	0,25	0,25	51,20	0,12	11,79

2. Studi Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam untuk Menentukan Enzim dengan Peningkatan Kadar Protein Larut Air Tertinggi

Enzim (ml)	Bulu (g)	Buffer (ml)	Absorbansi			Rata- rata	Protein Terlarut	Uji Aktivitas Enzim (mg/detik)(ml enzim)	Peningkatan Kadar Protein Terlarut (%)
			U1	U2	U3				
0,00	1,00	160,00	0,07	0,06	0,07	0,07	13,60	0,00	0,00
0,04	1,00	160,00	0,07	0,07	0,07	0,07	14,00	5,56	2,94
0,08	1,00	160,00	0,07	0,07	0,07	0,07	14,40	0,28	5,88
0,12	1,00	160,00	0,08	0,08	0,07	0,08	15,40	2,78	13,24
0,16	1,00	160,00	0,08	0,08	0,08	0,08	16,60	2,61	22,06
0,20	1,00	160,00	0,07	0,07	0,07	0,07	14,80	0,67	8,82

Lampiran 11. Tabel Pengamatan Konsumsi Pakan Ayam Broiler

1. Perlakuan Pakan Bungkil Kedelai (P1)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan I (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	5	986	197,2	197,2
2	5	1098	219,6	416,8
3	5	1292	258,4	675,2
4	5	1631	326,2	1001,4

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan II (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	5	887	177,4	177,4
2	5	1143	228,6	406
3	5	1175	235	641
4	5	1624	324,8	965,8

2. Perlakuan Pakan Tepung Ikan (P2)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan I (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	5	1357	271,4	271,4
2	5	2279	455,8	727,2
3	5	3415	683	1410,2
4	5	4339	867,8	2278

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan II (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	5	1265	253	253
2	4	2131	438,8	691,8
3	4	2763	690,75	1382,55
4	4	3312	828	2210,55

3. Perlakuan Pakan Tepung Bulu Ayam (P3)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan I (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	5	822	164,4	164,4
2	4	1129	250,8	415,2
3	4	1292	323	738,2
4	4	1856	464	1202,2

Minggu Ke-	Jumlah Ayam Ulangan II (ekor)	Konsumsi Total/minggu (gr)	Konsumsi/ekor/minggu	Konsumsi Akumulatif (gr/ekor)
1	4	765	168,65	168,65
2	3	698	214,0833	382,7333
3	2	749	263,1667	645,9
4	2	974	487	1132,9

Lampiran 12. Tabel Pengamatan Pertumbuhan Ayam Broiler

1. Perlakuan Pakan Bungkil Kedelai (P1)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam Ulangan I (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	130	131	142	147	150	700	140	0
1	5	195	194	181	179	169	918	183,6	43,6
2	5	222	208	188	256	286	1160	232	92
3	5	270	243	209	258	212	1192	238,4	98,4
4	5	297	335	407	453	266	1758	351,6	211,6

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam Ulangan II (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	134	131	145	143	153	706	141,2	0
1	5	173	169	220	198	173	933	186,6	45,4
2	5	200	293	193	223	209	1118	223,6	82,4
3	5	225	211	254	254	360	1304	260,8	119,6
4	5	357	342	635	276	364	1974	394,8	253,6

2. Perlakuan Pakan Tepung Ikan (P2)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam Ulangan I (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	140	146	155	138	162	741	148,2	0
1	5	344	333	337	345	342	1701	340,2	192
2	5	603	620	660	645	662	3190	638	489,8
3	5	802	1013	1070	968	856	4709	941,8	793,6
4	5	1387	1504	1264	1212	1470	6837	1367,4	1219,2

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam Ulangan II (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	138	131	152	153	136	710	142	0
1	5	341	342	317	316	353	1669	333,8	191,8
2	4	583	580	586	702		2451	612,75	470,75
3	4	1096	865	872	920		3753	938,25	796,25
4	4	1367	1228	1580	1140		5315	1328,75	1186,75

3. Perlakuan Pakan Tepung Bulu Ayam (P3)

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam Ulangan I (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	145	146	138	130	135	694	138,8	0
1	5	229	245	192	251	217	1134	226,8	88
2	4	333	383	323	263		1302	325,5	186,7
3	4	536	434	469	371		1810	452,5	313,7
4	4	769	808	631	717		2925	731,25	592,45

Minggu Ke-	Jumlah Ayam (ekor)	Berat Badan Ayam (g)					Berat Total (g)	Berat Ayam/ekor/minggu (g)	PBB Ayam/ekor/minggu(g)
		1	2	3	4	5			
0	5	153	122	144	145	146	710	142	0
1	4	238	205	223	236		902	225,5	83,5
2	3	272	310	322			904	301,3333	159,3333
3	2	397	377				774	387	245
4	2	679	688				1367	683,5	541,5

Lampiran 13. Uji Statistik Anova-twoway Pengaruh Jenis Sumber Protein terhadap Konsumsi Pakan, Pertambahan Berat Badan, dan Konversi Pakan Ayam Broiler

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Jumlah Konsumsi Pakan	Between Groups	1823536.448	2	911768.224	906.345	.000
	Within Groups	3017.951	3	1005.984		
	Total	1826554.399	5			
Peningkatan Berat Badan	Between Groups	971953.521	2	485976.760	538.687	.000
	Within Groups	2706.453	3	902.151		
	Total	974659.973	5			
Konversi Pakan	Between Groups	7.005	2	3.502	23.856	.014
	Within Groups	.440	3	.147		
	Total	7.445	5			

Lampiran 14. Uji Duncan's Pengaruh Jenis Sumber Protein terhadap Konsumsi Pakan, Pertambahan Berat Badan, dan Konversi Pakan Ayam Broiler

Jumlah Konsumsi Pakan

Duncan

Jenis Pakan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Bungkil Kedelai	2	983.6		
Tepung Bulu Ayam	2		1194.8	
Tepung Ikan	2			2244.3
Sig.		1.0	1.0	1.0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Peningkatan Berat Badan

Duncan

Jenis Pakan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Bungkil Kedelai	2	232.6		
Tepung Bulu Ayam	2		567.0	
Tepung Ikan	2			1203.0
Sig.		1.0	1.0	1.0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Konversi Pakan

Duncan

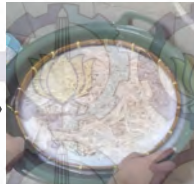
Jenis Pakan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Tepung Ikan	2	1.865565	
Tepung Bulu Ayam	2	2.111000	
Bungkil Kedelai	2		4.270437
Sig.		.567	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 15. Preparasi Tepung Bulu (Feather Meal)



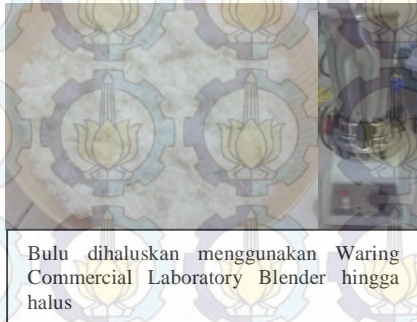
Limbah bulu ayam dicuci denan air hingga bebas dari kuku, daging, dan darah.



Bulu ayam dicuci dengan sabun dan dibilas.



Bulu direbus pada suhu 100°C selama 2-3 jam lalu ditiriskan dan dijemur menggunakan matahari hingga kering.



Bulu dihaluskan menggunakan Waring Commercial Laboratory Blender hingga halus



Bulu ayam yang telah dikeringkan dibersihkan kembali agar bebas dari kotoran seperti kuku dan daging kemudian digunting agar lebih halus

Lampiran 16. Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase oleh *Bacillus* sp. SLII-I



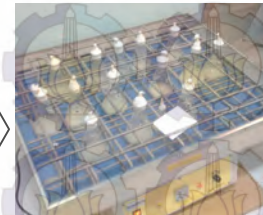
Kultur di media NA dan NB



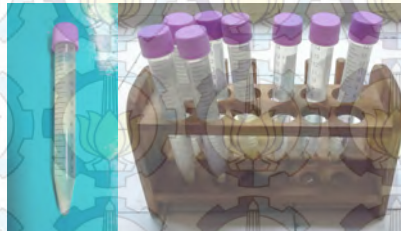
Kultur diaklimatisasi pada media FMB dan FM yang mengandung tepung bulu



Kultur di media FM untuk membuat starter dan produksi enzim



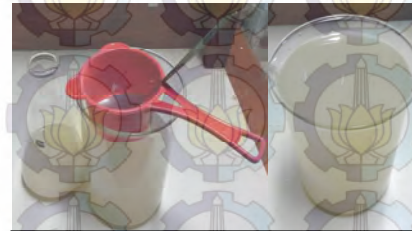
Inkubasi kultur dengan rotary shaker pada suhu ruang dan 110 rpm



Natan merupakan pelet *Bacillus* sp. Sedangkan supernatant merupakan enzim kasar keratinase.



Sentrifus media kultur dengan kec.3500 rpm selama 30 menit



Media FM produksi enzim keratinase disaring untuk menghilangkan sisa tepung bulu.

Lampiran 17. Modifikasi Enzimatis Limbah Bulu Ayam dan Konversi Tepung Bulu Menjadi Sumber Protein Alternatif



Tepung bulu, buffer fosfat, dan enzim keratinase kasar dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan diinkubasi suhu 50°C selama 7200 detik



Larutan disaring menggunakan kasa untuk menghilangkan tepung bulu. Larutan kemudian disaring menggunakan Whatmann no.1



Filtrat yang diperoleh dihitung kadar protein terlarutnya menggunakan metode Bradford.



Tepung bulu dihaluskan kembali kemudian disimpan ditempat tertutup dan bersih



Tepung bulu yang masih basah dipanaskan dengan oven hingga benar-benar kering

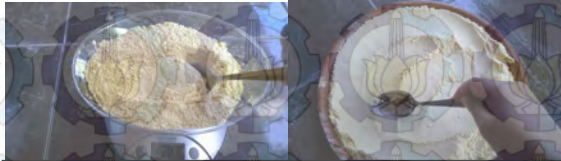


Larutan tepung bulu yang telah dimodifikasi secara enzimatis dipanaskan hingga buffer menguap

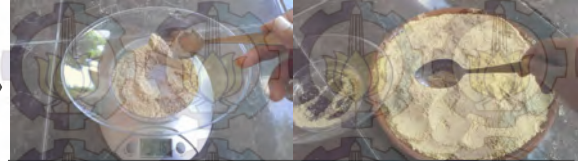


Tepung bulu, buffer, dan enzim keratinase diinkubasi pada suhu 50°C selama 7200 detik

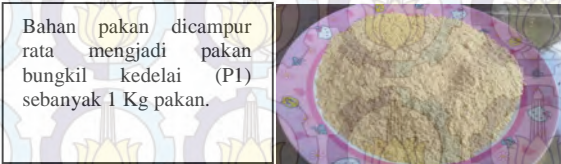
Lampiran 18. Pembuatan Pakan Penelitian



Tepung jagung kuning ditimbang sebanyak 550 gram untuk mendapatkan komposisi 55% dari 1 Kg pakan.



Tepung dedak ditimbang sebanyak 30 gram untuk mendapatkan komposisi 3% dari 1 Kg pakan.



Bahan pakan dicampur rata menjadi pakan bungkil kedelai (P1) sebanyak 1 Kg pakan.



Tepung bungkil kedelai ditimbang sebanyak 420 gram untuk mendapatkan komposisi 42% dari 1 Kg pakan.



Tepung jagung kuning ditimbang sebanyak 550 gram untuk mendapatkan komposisi 55% dari 1 Kg.



Tepung dedak ditimbang sebanyak 30 gram untuk mendapatkan komposisi 3% dari 1 Kg pakan.



Tepung ikan ditimbang sebanyak 50 gram untuk mendapatkan komposisi 5% dari 1 Kg pakan.



Tepung bungkil kedelai ditimbang sebanyak 3700 gram untuk mendapatkan komposisi 37% dari 1 Kg pakan.



Bahan pakan dicampur rata menjadi pakan tepung ikan (P2) sebanyak 1 Kg pakan.



Tepung jagung kuning ditimbang sebanyak 550 gram untuk mendapatkan komposisi 55% dari 1 Kg.



Tepung dedak ditimbang sebanyak 30 gram untuk mendapatkan komposisi 3% dari 1 Kg pakan.



Tepung bulu ditimbang sebanyak 50 gram untuk mendapatkan komposisi 5% dari 1 Kg pakan.

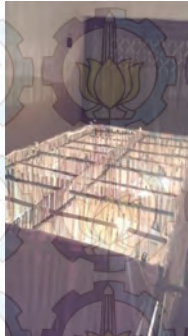


Tepung bungkil kedelai ditimbang sebanyak 3700 gram untuk mendapatkan komposisi 37% dari 1 Kg pakan.

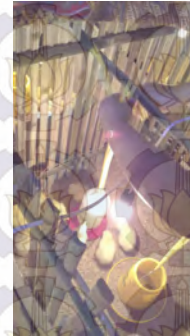


Bahan pakan dicampur rata menjadi pakan tepung bulu ayam (P3) sebanyak 1 Kg pakan.

Lampiran 19. Pemeliharaan Ayam Broiler



Kandang ayam diberi pemanas berupa lampu pijar 25 Watt. Dinding kandang ditutupi oleh kain atau Koran untuk menghindari hilangnya panas dari kandang. Termometer ruang digunakan untuk kontrol suhu



Brooding DOC (Day Old Chick) menggunakan lampu pemanas Broiler diberi pakan jadi hingga umur 6 hari setelah dirasa siap diberi perlakuan pakan.



Setiap hari sekam ditambahkan sehingga litter tidak lembab. Sekam diangkat dan dibuang pada sore hari seminggu sekali,



Pada umur 4 hari ayam broiler diberikan vaksin ND dan dibiarkan istirahat selama 6 hari. Air minum tidak lupa tetap diberi suplemen vitamin dan mineral untuk memulihkan ayam.

Lampiran 20. Pemberian Pakan dan Minum



Ayam broiler diberi pakan perlakuan secara adlibitum



Ayam broiler diberi air minum (telah ditambahkan suplemen vitamin dan mineral) secara adlibitum.



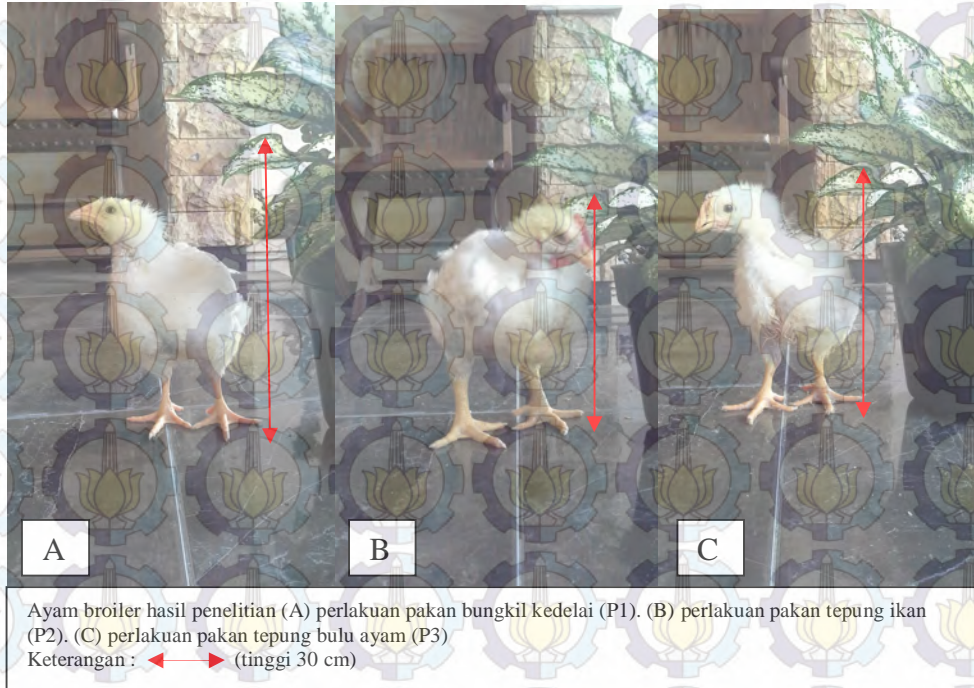
Pakan ditimbang setiap hari untuk mengetahui jumlah konsumsi pakan

Lampiran 21. Penimbangan Ayam Broiler



Penimbangan ayam broiler dilakukan setiap minggu untuk kontrol pertumbuhan ayam broiler.

Lampiran 22. Ayam Hasil Penelitian



Modifikasi Enzimatik Limbah Bulu Ayam Sebagai Pakan Ternak Kaya Nutrisi

Ditya Larasati dan Endry Nugroho Prasetyo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: endry@bio.its.ac.id

Abstrak—Bulu merupakan limbah organik terdiri atas 90% keratin dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen. Ikatan dan struktur keratin membuat limbah bulu tidak larut air dan sukar didegradasi. Solusi alternatifnya adalah dengan menggunakan mikroorganisme keratinolitik yang mampu menghasilkan keratinase dan dapat mendegradasi keratin menjadi asam amino dan peptida yang merupakan protein larut air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pakan ternak dengan sumber protein alternatif limbah bulu ayam yang telah dimodifikasi secara enzimatik terhadap penampilan produksi ayam broiler. Enzim keratinase diproduksi oleh *Bacillus* sp. SLII-I melalui fermentasi menggunakan media feather meal (FM) yang mengandung bulu. Pakan dengan sumber protein alternatif tepung bulu diuji coba pada ternak ayam broiler (*Gallus domesticus*) selama sebulan dengan dengan parameter pengukuran konsumsi pakan, pertambahan bobot badan, dan konversi pakan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan prosedur analisis ragam (Analysis of Variance /ANOVA) dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. SLII-I mampu menghasilkan menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2,08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22,06% dan memberikan pengaruh terhadap penampilan produksi ayam broiler dibandingkan dengan tepung bungkil kedelai dan tepung ikan. Adapun ayam broiler dengan pakan tepung bulu memberikan penampilan produksi meliputi konsumsi pakan, pertambahan berat badan, dan konversi pakan masing-masing sebesar 1194,8 gram/ekor, 567 gram/ekor, dan 2,11.

Kata kunci: *Bacillus* sp. SLII-I, keratinase, keratin, pakan ternak, ayam broiler.

I. PENDAHULUAN

Bulu unggas merupakan salah satu limbah organik yang ada dalam kuantitas besar sebagai produk samping dari peternakan. Pada umumnya setiap unggas memiliki hingga 125 g bulu [1] yang merupakan 5-7% dari berat total ayam dewasa [2]. Sementara itu, sebanyak 400 juta ayam diproses setiap minggu di seluruh dunia [1] sehingga akumulasi tahunan dari limbah bulu ayam mencapai 5 juta ton [3]. Limbah bulu unggas yang dibuang biasanya ditimbun atau dibakar sehingga menyebabkan masalah lingkungan global seperti pencemaran udara dan sumber air bawah tanah [2;4]

serta pemborosan sumber daya kaya protein [4]. Bulu unggas yang dibuang juga menyebabkan berbagai infeksi termasuk klorosis, mycoplasmosis, dan kolera unggas [5].

Bulu unggas sebagai sumber daya kaya protein terdiri atas 90 % keratin [2;4]. Keratin merupakan protein tidak larut air yang memiliki struktur α -heliks (α -keratin) atau β -sheet (β -keratin) dengan ikatan disulfida dan ikatan hidrogen [6;7]. Struktur-struktur ini menggulung membentuk struktur yang kompleks [8]. Struktur dan ikatan dalam keratin membuat keratin sangat stabil dan resisten terhadap agen biokimia [7] sehingga sulit didegradasi menggunakan protease umum seperti tripsin, pepsin, dan papain [9].

Sifat kimia keratin yang tidak reaktif menyebabkan limbah bulu unggas mengalami daur ulang yang buruk di alam dan memiliki keterbatasan utilitas. Meski demikian, bulu unggas dapat didegradasi dengan menggunakan metode mekanis, kimia, dan biologi [9]. Kekurangan dari metode mekanis dan kimia adalah membutuhkan input energi yang besar, menimbulkan masalah lingkungan, dan merusak asam amino tertentu seperti metionin, lisin, dan triptofan. Degradasi menggunakan metode mekanis dan kimiawi juga menghasilkan asam amino tidak bernutrisi seperti lantionin dan lisinoalanin [10]. Hal ini menyebabkan kualitas protein dan kemampuannya untuk dicerna rendah [11] sehingga limbah bulu unggas yang diubah menjadi suplemen makanan secara konvensional memiliki kualitas yang buruk dan tidak menguntungkan secara ekonomi [12].

Solusi alternatif dan inovatif untuk mengatasi limbah bulu unggas yang melimpah adalah dengan menggunakan mikroorganisme keratinolitik yang mampu menghasilkan keratinase dan peptidase yang dapat mendegradasi keratin [7]. Mikroorganisme keratinolitik terdiri atas beberapa spesies fungi seperti *Microsporium* [13], *Trichophyton* [14], dan *Actinomyces* [15] serta beberapa spesies bakteri seperti *Bacillus* [16;17;18] dan *Streptomyces* [19]. Sebagian besar jamur yang menghasilkan keratinase bersifat patogen [20]. Oleh karena itu, banyak penelitian yang menggali potensi keratinase yang berasal dari bakteri [21]. Penelitian yang telah ada menunjukkan bahwa *Bacillus* spp. memiliki keunggulan khusus dalam mendegradasi bulu karena tingkat keamanan dan kemampuan untuk mengeluarkan sejumlah besar keratinase langsung ke dalam media [22].

Keratinase adalah enzim protease spesifik yang hanya dapat mendegradasi keratin [7]. Keratinase akan menyerang ikatan disulfida untuk mendegradasi keratin [23]. Biodegradasi keratin menggunakan enzim keratinase menghasilkan peptida dan asam amino yang langka seperti serin, sistein, dan prolin

[9] serta asam amino esensial seperti treonin, valin, metionin, isoleucine, leusin, lisin, histidin, dan tirosin [24]. Limbah bulu ayam yang mengandung protein keratin tinggi memiliki potensi untuk digunakan sebagai sumber protein alternatif [23] serta dapat diaplikasikan dalam pembuatan pakan ternak [25] yang murah dan kaya nutrisi [26;27]. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan dengan memanfaatkan limbah bulu ayam yang dimodifikasi secara enzimatik oleh enzim keratinase *Bacillus* sp. SLII-I dan dikonversi menjadi sumber protein alternatif pada pakan ayam broiler (*Gallus domesticus*) sehingga menghasilkan pakan ternak yang murah dan kaya nutrisi.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 hingga bulan Juni 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi serta Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

B. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor, blender, rotary shaker, spektrofotometer, sentrifus, oven, whatman No.1, tepung bulu, nutrient agar media (NA), nutrient broth media (NB), feather meal broth media (FMB), feather meal media (FM), larutan penyangga fosfat, reagen Bradford, tepung bungkil kedelai, tepung ikan, dedak, dan gandum.

C. Produksi dan Isolasi Enzim Keratinase

Produksi enzim keratinase dilakukan melalui teknik fermentasi oleh isolat *Bacillus* sp. SLII-I pada media *feather meal* (FM) yang mengandung bulu sebagai sumber karbon yang berupa keratin. Isolat *Bacillus* sp. SLII-I yang digunakan sebelumnya telah dikultur dan diaklimatisasi pada media NA, NB, FMB, dan FM. Kultur diinkubasi selama 24 jam menggunakan *rotary shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 110 rpm pada masing-masing media. Isolasi enzim keratinase menggunakan teknik sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit dimana supernatan merupakan enzim keratinase kasar dan natan merupakan pelet *Bacillus* sp. SLII-I.

D. Modifikasi Enzim Limbah Bulu

Modifikasi enzimatik limbah bulu ayam dilakukan dengan cara mereaksikan secara langsung satu gram tepung bulu dan 0,16 ml enzim keratinase. Tepung bulu ayam sebanyak 1 gram dilarutkan kedalam 160 ml larutan penyangga fosfat (50 mM, pH 7.0). Kemudian enzim keratinase (0,04 ml, 0,08 ml, 0,12 ml, 0,16 ml, dan 0,20 ml) ditambahkan kedalam larutan. Reaksi diinkubasi pada suhu 50 °C selama 7200 detik. Larutan didinginkan menggunakan air es pada suhu 0 °C lalu disaring menggunakan kertas *Whatman* nomor 1. Filtrat yang diperoleh merupakan protein larut air yang kadarnya ditentukan menggunakan metode Bradford berdasarkan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA).

Aktivitas dalam penelitian ini didefinisikan sebagai kemampuan keratinase menghidrolisis keratin menjadi protein

larut air sebanyak 1 mg tiap detik dibandingkan dengan kontrol. Pengukuran aktivitas keratinase ditentukan berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Aktivitas} \left(\frac{\text{Unit}}{\text{ml}} \right) = \frac{\Delta DP/T}{V} \times DF$$

Keterangan:

ΔDP = Jumlah protein terlarut dibandingkan kontrol (mg)

T = Waktu inkubasi (detik)

V = Volume enzim keratinase (ml)

DF = Faktor pengenceran

Konversi menjadi pakan ternak dilakukan dengan menggunakan metode [28] dimana larutan tepung bulu yang telah direaksikan dengan enzim dipanaskan hingga mendidih. Cairan akan menguap dan yang tersisa adalah tepung bulu yang digunakan sebagai sumber protein pada pakan ternak.

E. Pengamatan Tampilan Produksi Ayam Broiler

Pada penelitian ini digunakan bibit ayam broiler (DOC/ *Day Old Chick*) yang tidak dibedakan jenis kelaminnya (*unsex*). Kandang yang digunakan adalah kandang *litter* sebanyak 6 petak dengan ukuran tiap petak 70 x 70 x 60 cm. Setiap petak kandang diisi 5 ekor ayam sehingga terdapat 30 ekor DOC yang dipelihara dan diberi perlakuan pakan penelitian selama 4 minggu. Komposisi dan kadar nutrisi pakan penelitian ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi dan Kadar Nutrisi Pakan Ayam Broiler

Bahan Pakan	P1	P2	P3
Jagung Kuning (%)	55	55	55
Dedak (%)	3	3	3
Bungkil Kedelai (%)	42	37	37
Tepung Ikan (%)	0	5	0
Tepung Bulu (%)	0	0	5
Protein (%)	27,95	28,15	29,35
Lemak (%)	2,77	2,82	2,79
Energi (Kkal/Kg)	3336,76	3297,91	3342,69

Tampilan produksi ayam broiler yang diamati meliputi konsumsi pakan, penambahan berat badan (PBB) ayam broiler, dan konversi pakan ayam broiler. Konsumsi pakan diukur dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Konsumsi Pakan} = \frac{\text{Konsumsi Pakan Akumulatif (g)}}{\text{Jumlah Ayam Broiler} \left(\frac{\text{ekor}}{\text{minggu}} \right)}$$

Pertambahan berat badan (PBB) diukur dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$PBB = \frac{\text{Berat Total Ayam (g)}}{\text{Jumlah Ayam Broiler (Ekor)}}$$

$$PBB = \text{Bobot Awal} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right) - \text{Bobot Akhir} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)$$

Konversi pakan diukur dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$FCR = \frac{\text{Konsumsi Pakan Akumulatif} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)}{\text{Pertambahan Berat Badan} \left(\frac{g}{\text{ekor}} \right)}$$

III. URAIAN PENELITIAN

Bacillus sp. SLII-I dapat menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2,08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22,06%. Hasil uji statistika Anova-oneway pada tingkat 95% dengan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan terdapat pengaruh nyata ($P < 0,05$) perlakuan pakan dengan berbagai jenis sumber protein terhadap penampilan produksi ayam broiler.

Tabel 2. Pengaruh Pakan terhadap Tampilan Produksi Ayam Broiler

Perlakuan	Konsumsi (gram/ekor)	PBB (gram/ekor)	Konversi Pakan
P1	983,6 ^A	232,6 ^A	4,27 ^B
P2	2244,3 ^C	1203,0 ^C	1,86 ^A
P3	1194,8 ^B	567,0 ^B	2,11 ^A

Ayam yang diberi perlakuan pakan tepung ikan (P2) menunjukkan konsumsi pakan tertinggi sebesar 2244, 3 gram/ekor. Ayam dengan perlakuan pakan tepung bulu ayam (P3) konsumsi pakan sebesar 1194,8 gram/ekor. Sedangkan, ayam yang diberi perlakuan pakan tepung bungkil kedelai (P1) menunjukkan konsumsi pakan terendah sebesar 983,6 gram/ekor. Tingkat konsumsi pakan yang berbeda ini dipengaruhi oleh keseimbangan kandungan zat-zat makanan dalam pakan [29]. Konsumsi pakan menurun sesuai dengan penurunan protein kasar dan tingkat ketidakseimbangan asam amino esensial [29;30;31].

Ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2) memiliki tingkat konsumsi yang tinggi sebab tepung ikan memiliki kualitas protein dan asam yang lebih baik dibandingkan dengan tepung bungkil kedelai dan tepung bulu ayam. Tepung ikan mengandung asam amino esensial lisin dan metionin yang tinggi [32] sedangkan tepung bungkil kedelai memiliki asam amino metionin [29] yang rendah. Tepung bulu ayam kaya akan kandungan asam amino leusin, isoleusin, dan valin yang tinggi namun kandungan asam amino triptofan dan metionin rendah [29]. Metionin merupakan asam amino pembatas utama pada unggas, lisin sebagai asam amino pembatas kedua, dan treonin sebagai pembatas ketiga [31]. Kekurangan salah satu unsur asam amino esensial akan mengakibatkan konsumsi pakan yang rendah dan pertumbuhan yang terhambat.

Ayam broiler yang diberi perlakuan pakan tepung ikan (P2) menunjukkan pertambahan berat badan tertinggi sebesar 1203,0 gram/ekor. Hal ini disebabkan tingginya tingkat konsumsi pakan ayam broiler yang mencapai 2244, 3 gram/ekor. Konsumsi pakan yang tinggi menyebabkan lebih banyak protein dan energi yang tersedia untuk pertumbuhan. Pertumbuhan ayam broiler sangat dipengaruhi oleh protein [33] dimana pakan dengan kadar protein tinggi mendukung pertumbuhan yang cepat [34]. Pakan perlakuan tepung bungkil kedelai (P1) dan tepung bulu ayam (P2) memberikan pengaruh yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2) karena ayam broiler mengkonsumsi pakan lebih sedikit sehingga energi dan protein yang masuk kedalam tubuh untuk keperluan pertumbuhan rendah.

Pertumbuhan dipengaruhi oleh kualitas protein dalam pakan. Kualitas protein pada dasarnya ditentukan oleh komposisi asam amino dan daya serapnya. Hasil analisis nutrisi menunjukkan bahwa tepung bungkil kedelai memiliki kadar protein yang paling rendah sebesar 54,0% sehingga menyebabkan pertumbuhan yang paling rendah. Sementara itu, tepung bulu ayam memiliki kadar protein paling tinggi sebesar 82,0% namun tidak menghasilkan pertumbuhan yang cukup baik. Hal ini disebabkan oleh kandungan protein keratin yang memiliki daya serap yang rendah sehingga tidak menghasilkan pertumbuhan ayam yang optimum. Tepung ikan memiliki kadar protein sebesar 57,9%. namun mampu menghasilkan pertumbuhan paling besar karena tepung ikan diduga memiliki daya serap yang lebih tinggi dibandingkan dengan tepung bulu ayam. Daya serap protein pakan yang rendah menyebabkan ayam tidak tumbuh dengan normal akibat pertambahan berat badan yang menurun [35].

Konversi pakan merupakan tolak ukur utama dalam menentukan keberhasilan produksi ayam broiler [36]. Pakan perlakuan tepung bungkil kedelai (P1) memberikan pengaruh konversi pakan terendah sebesar 4,27. Hal ini disebabkan oleh jumlah konsumsi pakan yang tinggi dan rendahnya pertambahan berat badan. Ayam broiler kurang mampu menggunakan pakan tepung bungkil kedelai (P1) secara efisien untuk pertumbuhan. Sementara itu, perlakuan pakan tepung ikan (P2) memberikan pengaruh konversi pakan terbesar sebesar 1,86. Hal ini disebabkan jumlah konsumsi pakan yang tinggi namun diiringi pula dengan pertambahan berat badan yang tinggi. Hal ini menyebabkan konversi pakan sesuai standar yang anda. Menurut [36] nilai FCR (food conversion ratio) yang ideal untuk pemeliharaan ayam pedaging hingga umur 35 hari adalah 1,736.

Perlakuan pakan tepung bulu (P3) menunjukkan pengaruh konversi pakan sebesar 2,11 yang secara statistik menunjukkan tingkat efisiensi pakan terhadap pertambahan berat badan yang sama dengan perlakuan pakan tepung ikan (P1). Konversi pakan yang tinggi ini dipengaruhi oleh kandungan zat gizi dalam pakan yang baik dan efisien dimana kandungan zat gizi tersebut diserap oleh tubuh dan diekspresikan dengan pertambahan berat badan [29]. Akan tetapi, ayam broiler dengan perlakuan pakan tepung bulu (P3) memiliki nilai pertambahan berat badan yang rendah dibandingkan dengan perlakuan pakan mengandung protein tepung ikan. Hal ini disebabkan ayam broiler mengkonsumsi pakan yang lebih rendah pula sehingga protein dan energi yang tersedia untuk pertumbuhan rendah pula meski menghasilkan nilai konversi

pakan yang baik dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan pakan tepung ikan (P2). Perbedaan tingkat konsumsi pakan ini diduga disebabkan oleh tekstur, rasa, dan aroma dari tepung bulu yang kurang disukai oleh ayam broiler sehingga konsumsi pakan menjadi rendah. Hal ini sesuai dengan pernyataan [37] yang menyatakan ada pengaruh tingkat kesukaan makan (palatibilitas) terhadap konsumsi pakan dan penambahan berat badan, sehingga secara tidak langsung mempengaruhi konversi pakan.

IV. KESIMPULAN

Bacillus sp. SLII-I dapat menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2,08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22,06%. Penggunaan tepung bulu ayam hingga 5% dalam pakan mampu menggantikan sumber protein konvensional tepung bungkil kedelai dengan tampilan produksi ayam broiler yang lebih tinggi namun belum dapat menggantikan sumber protein konvensional tepung ikan yang menghasilkan pertumbuhan dan konsumsi pakan yang lebih tinggi. Pakan mengandung tepung bulu ayam memiliki efisiensi pakan yang sama dengan pakan mengandung tepung ikan dalam menghasilkan pertumbuhan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis kepada Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, MT selaku pembimbing, Triono Bagus Saputro, S.Si, M.Si dan N. Dwianita Kuswytasari, S.Si, M.Si selaku tim penguji serta Maharani Pertiwi Koentjoro, S.Si., M. Biotech yang telah memberi masukan dan saran. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ayahanda Tjahjo Harsojo dan ibunda Theresia Puspita atas segala doa restu dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman (Mayang, Rysa, Suci, Tania, Kuni, Wahyu, Trio, Yudi, Cholis, Aidit, Ayu) dan seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Laskhmi P.J., Ch. M. K. Chitturi, dan V. V. Lakshmi. Efficient Degradation of Feather by Keratinase Producing *Bacillus* sp. International Journal of Microbiology (2013).
- [2] Matikevičienė Matikevičienė, V., D. Masiliūnienė, dan S. Grigiskis. Degradation Of Keratin Containing Wastes By Bacteria With Keratinolytic Activity. Proceedings of the 7th International Scientific and Practical Conference. Rēzeknes Augstskola, Rēzekne, RA Izdevniecība (2009).
- [3] Han, M., W. Luo., Q. Gu., dan X. Yu. Isolation And Characterization Of A Keratinolytic Protease From A Feather-Degrading Bacterium *Pseudomonas Aeruginosa* C11. African Journal of Microbiology Research 6: 2211-2221 (2012).
- [4] Cai CG, Lou BG, Zheng XD. Keratinase production and keratin degradation by a mutant strain of *Bacillus subtilis*. J Zhejiang Univ Sci B. 9: 60-7 (2008).
- [5] Williams, C. M., C. G. Lee, J. D. Garlich, dan J. C. H. Shih. Evaluation of a Bacterial Feather Fermentation Product, Feather-Lysate, as a Feed Protein. Poultry Science 70: 85-94 (1991).
- [6] Riffel, A. dan A. Brandelli. Keratinolytic Bacteria Isolated From Feather Waste. Brazilian Journal of Microbiology 37: 395-399 (2006).
- [7] Mazotto, A. M., R. R. R. Coelho, S. M. L. Cedrola, M.F. de Lima., S. Couri, E. P. de Souza, dan A. B. Vemelho. Keratinase Production by *Three Bacillus* spp. Using Feather Meal and Whole Feather as Substrate in a Submerged Fermentation. Enzyme Research (2011).
- [8] Krelpak L., J. Doucet, dan F. Briki. New aspects of the α -helix to β -sheets transition in stretched hard α -keratin fibers. Biophysics Journal 87: 640-647 (2004).
- [9] Mousavi, S., M. Salouti, R. Shapoury, dan Z. Heidari. Research Article: Optimization of Keratinase Production for Feather Degradation by *Bacillus subtilis*. Jundishapur J Microbiol. October 6: 7160 (2013).
- [10] Marcondes N. R., C. L. Taira, D. C. Vandresen, T. I. E. Svidzinski, M. K. Kadowaki, and R. M. Peralta. New featherdegrading filamentous fungi. Microbial Ecology 56:13-17 (2008).
- [11] Zerdani I, Faid M, Malki A. Feather wastes digestion by new isolated strains *Bacillus* sp in Morocco. Afr J Biotechnol. 3:67-70 (2004).
- [12] Acda M.N. Waste chicken feather as reinforcement in cementbonded composites. Philippine Journal of Science 139: 161-166 (2010).
- [13] Essien, J.P., A.A. Umoh, E.J. Akpan, S.I. Eduok and A. Umoiyoho. Growth keratinolytic proteinase activity and thermotolerance of dermatophytes associated with alopecia in Uyo, Nigeria. Acta Microbiologica Et Immunologica Hungarica 56: 61- 69 (2009).
- [14] Anbu, P., A. Hilda, H.W. Sur, B.K. Hur and S. Jayanthi. Extracellular keratinase from *Trichophyton* sp. HA-2 isolated from feather dumping soil. Int. Biodeterior. Biodegrad 62: 287-292 (2008).
- [15] Bockle, B., B. Galunski and R. Muller. Characterization of a keratinolytic serine protease from *Streptomyces pactum* DSM40530. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3705-3710 (1995).
- [16] Cai, C. and X. Zheng. Medium optimization for keratinase production in hair substrate by a new *Bacillus subtilis* KD-N2 using response surface methodology. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 36: 875-883 (2009).
- [17] Macedo, A.J., W.O. Da Silva, R. Gava, D. Driemeier, J.A. Henriques and C. Termignoni. Novel keratinase from *Bacillus subtilis* S14 exhibiting remarkable dehairing capabilities. Appl. Environ. Microbiol. 71: 594-596 (2005).
- [18] Pillai, P. and G. Archana. Hide depilation and feather disintegration studies with keratinolytic serine protease from a novel *Bacillus subtilis* isolate. Appl. Microbiol. Biotechnol 78: 643-650 (2008).
- [19] Syed, D.G., J.C. Lee, W.J. Li, C.J. Kim and D. Agasar, 2009. Production, characterization and application of keratinase from *Streptomyces gulbargensis*. Bioresour. Technol 100: 1868-1871 (2009).
- [20] Lin X., C. G. Lee, E. S. Casale, and J. C. H. Shih. 1992. Purification and characterization of a keratinase from a feather-degrading *Bacillus licheniformis* strain. Applied and Environmental Microbiology 58:3271-3275 (1992).
- [21] Esawy MA. Isolation and partial characterization of extracellular keratinase from a novel mesophilic *Streptomyces albus* AZA. Res J Agric Biol Sci. 3:808-17 (2007).
- [22] Agrahari, S. and Wadha, N. Degradation of Chicken Feather a Poultry Waste Product by Keratinolytic Bacteria Isolated from Dumping Site at Ghazipur Poultry Processing Plant. International Journal of Poultry Science 9:482-489 (2010).
- [23] Agrahari, S. Production Of Extracellular Keratinase Enzymes From *Bacillus Pumilis* Sn3 Isolated From Soil Sample Of Ghazipur Poultry Waste Site. Special Issue of International Journal of Sustainable Development and Green Economics (IJSDEG) 2:2315-4721 (2013).
- [24] Ali, T.H., Nadia H. A., and Latifa A. M. Production, Purification and Some Properties of Extracellular Keratinase from Feathers-Degradation by *Aspergillus oryzae* NRRL-447. Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation. 6: 123-136 (2011).
- [25] Sastry, T.P., P.K. Sehgal, B. Gupta and Mahendra Kumar. Solublised keratins as a Novel filler in the retaining of upper leather. Leather Science 33:345-359 (1986).
- [26] Balaji S., M. S. Kumar, R. Karthikeyan. Purification and Characterization of An Extracellular Keratinase from A Hornmeal-Degrading *Bacillus subtilis* MTCC (9102). World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 2741-2745 (2008).
- [27] Khardenavis A. A., A. Kapley, and H. J. Purohit. Processing of poultry feathers by alkaline keratin hydrolyzing enzyme from *Serratia* sp. HPC 1383. Waste Management 29:1409-1415 (2009).
- [28] Poovendran, P. Venkatasamy K., Vidhya K.K., E. Jamuna R., Eliyaperumal P. A study of feather keratin degradation by *Bacillus licheniformis* and quantification of keratinase enzyme produced. J. Microbiol. Biotech. Res 1(3):120-126 (2011).
- [29] Ketaren, S. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: UI Press (2008).

- [30] Burman, K.N. dan A.D. Burgess. *Responses t to Amino Acid. Nutrient Requirements of poultry and Nutritional Research*. Poultry Sci. Symposium Kent TN 15 (1986).
- [31] Trisiwi, H. F., Zuprizal, dan Supadmo. 2004. *Pengaruh Level Protein dengan Koreksi Asam Amino Esensial dalam pakan terhadap Penampilan dan Nitrogen Ekskreta Ayam Kampung*. Buletin Peternakan 28: 131-141 (2004).
- [32] Rahman, N. *Pemanfaatan Hidrolisat Protein Bulu Ayam sebagai Konstituen Formula Pakan Ayam Pedaging Masa Finisher*. Tesis. Malang: Universitas Brawijaya (2002).
- [33] Anggorodi, R. *Ilmu Makanan Ternak Umum*. Jakarta: Gamedia Pustaka Utama (1994).
- [34] Amrullah, I. K. *Manajemen Ternak Ayam Broiler*. Bogor: IPB-Press (2004).
- [35] Siregar, A.P., M. Sabrani, dan S. Pramu. *Teknik Berternak Ayam Pedaging di Indonesia*. Jakarta: Margie Group (1989).
- [36] Tamalludin, F. *Ayam Broiler*. Penebar Swadaya. Jakarta (2014).
- [37] Anggorodi, R. 1985. *Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama (1985).





Tugas Akhir – SB 15110

MODIFIKASI ENZIMATIK LIMBAH BULU AYAM SEBAGAI PAKAN TERNAK KAYA NUTRISI

Oleh:
Ditya Larasati
1511 100 046

Dosen Pembimbing :
Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, M.T.

Latar Belakang

Limbah Bulu Ayam

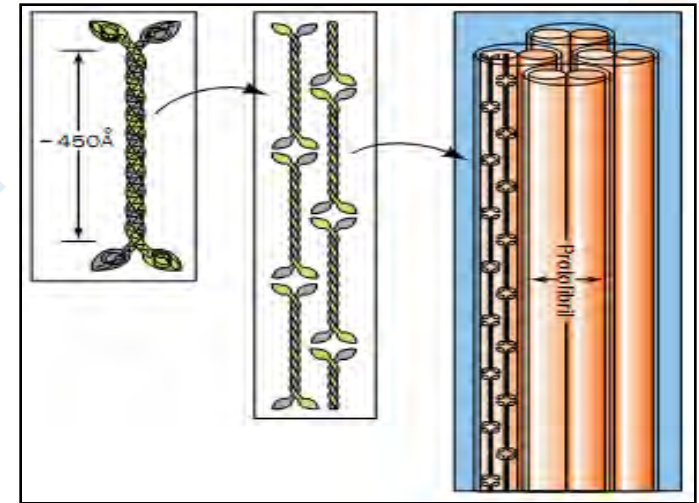


90% Keratin

Biodegradasi keratin menggunakan enzim keratinase menghasilkan peptida dan asam amino yang langka seperti serin, sistein, dan prolin (Mousavi *et al.*, 2013) serta asam amino esensial seperti treonin, valin, metionin, leusin, isoleusin, lisin, histidin, dan tirosin (Ali *et al.*, 2011).

Sumber Protein
Alternatif yang
Murah

Daya Cerna Rendah



Kimia

Mekanis

Biologi



KERATINASE

Batasan Masalah:

1. Isolat *Bacillus* sp. SLII-I
2. Skala laboratorium.
3. Hewan percobaan yang diberi pakan ternak dalam penelitian ini adalah ayam broiler (*Gallus domesticus*) dengan parameter pengukuran pertumbuhan dan konversi pakan ternak.

Tujuan:

1. Peningkatan kadar protein terlarut
2. Pengaruh pakan ternak dengan sumber protein alternatif limbah bulu ayam terhadap tampilan produksi ayam broiler.

Manfaat:

1. Kurangi limbah bulu
2. Pengolahan kembali
3. Pakan ternak kaya nutrisi dan murah
4. Skala industri

Metodologi



Produksi
Keratinase

Purifikasi
Keratinase

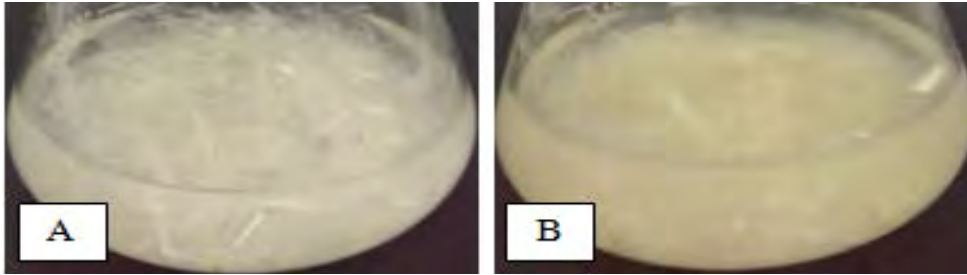
Aktivitas dan
Kandungan
Protein
Enzim
Keratinase

Modifikasi
Enzimatik
Limbah Bulu

Uji Biologis
Pakan



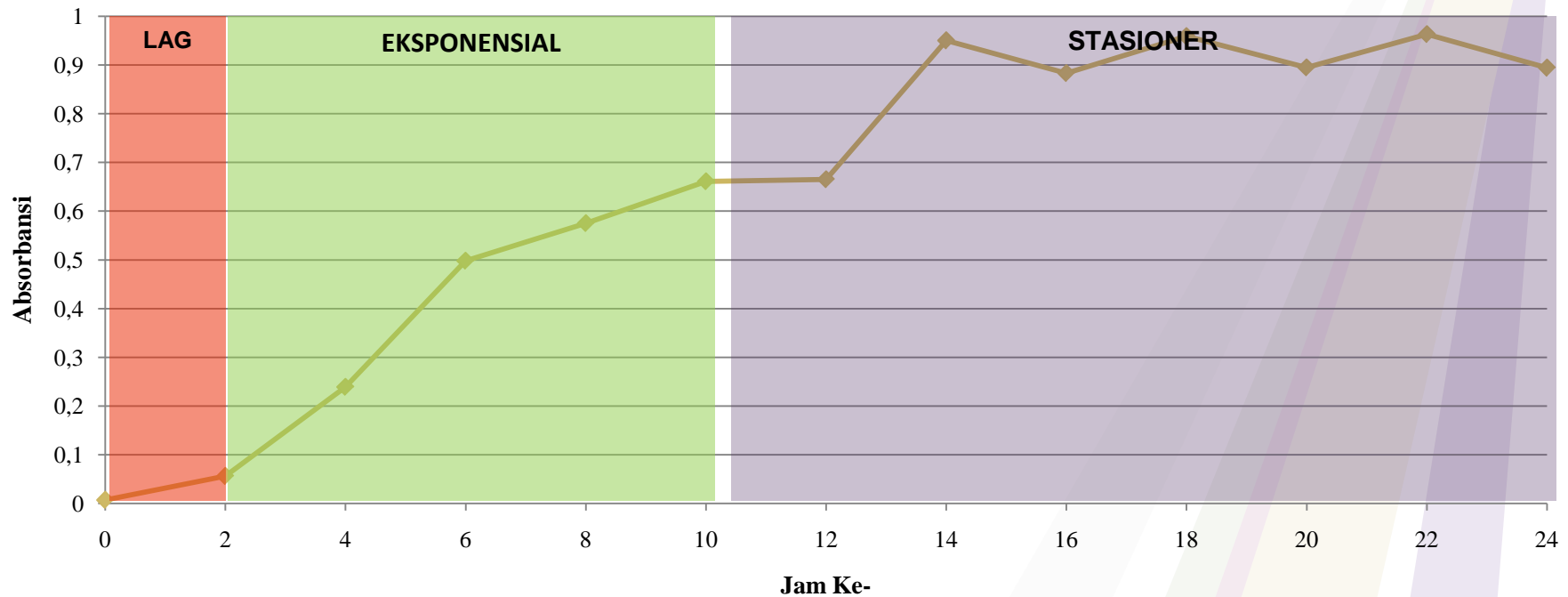
Produksi dan Isolasi Keratinase



Perubahan:

- Tekstur
- Warna
- Bau

Kurva Pertumbuhan Isolat Bacillus SLII-I Pada Media FM Produksi Enzim Keratinase

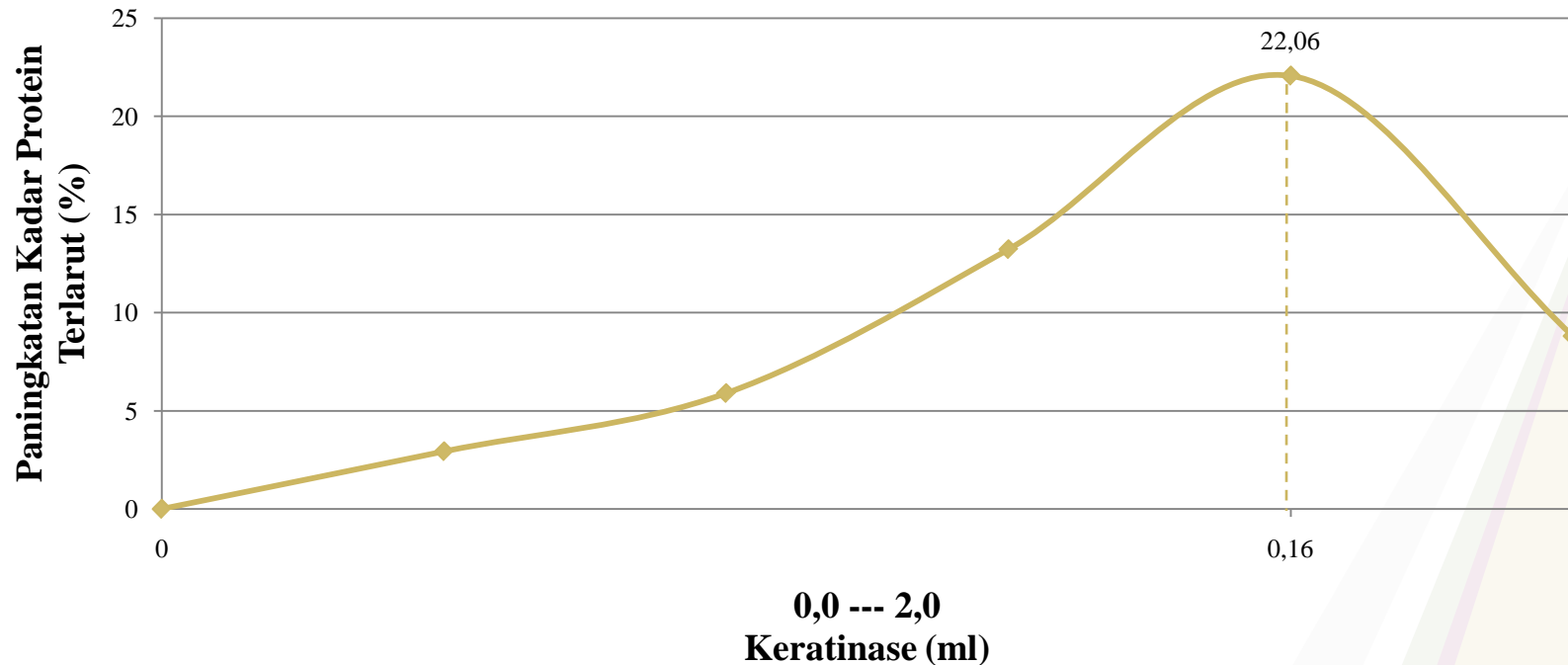


Aktivitas dan Kadar Protein Keratinase



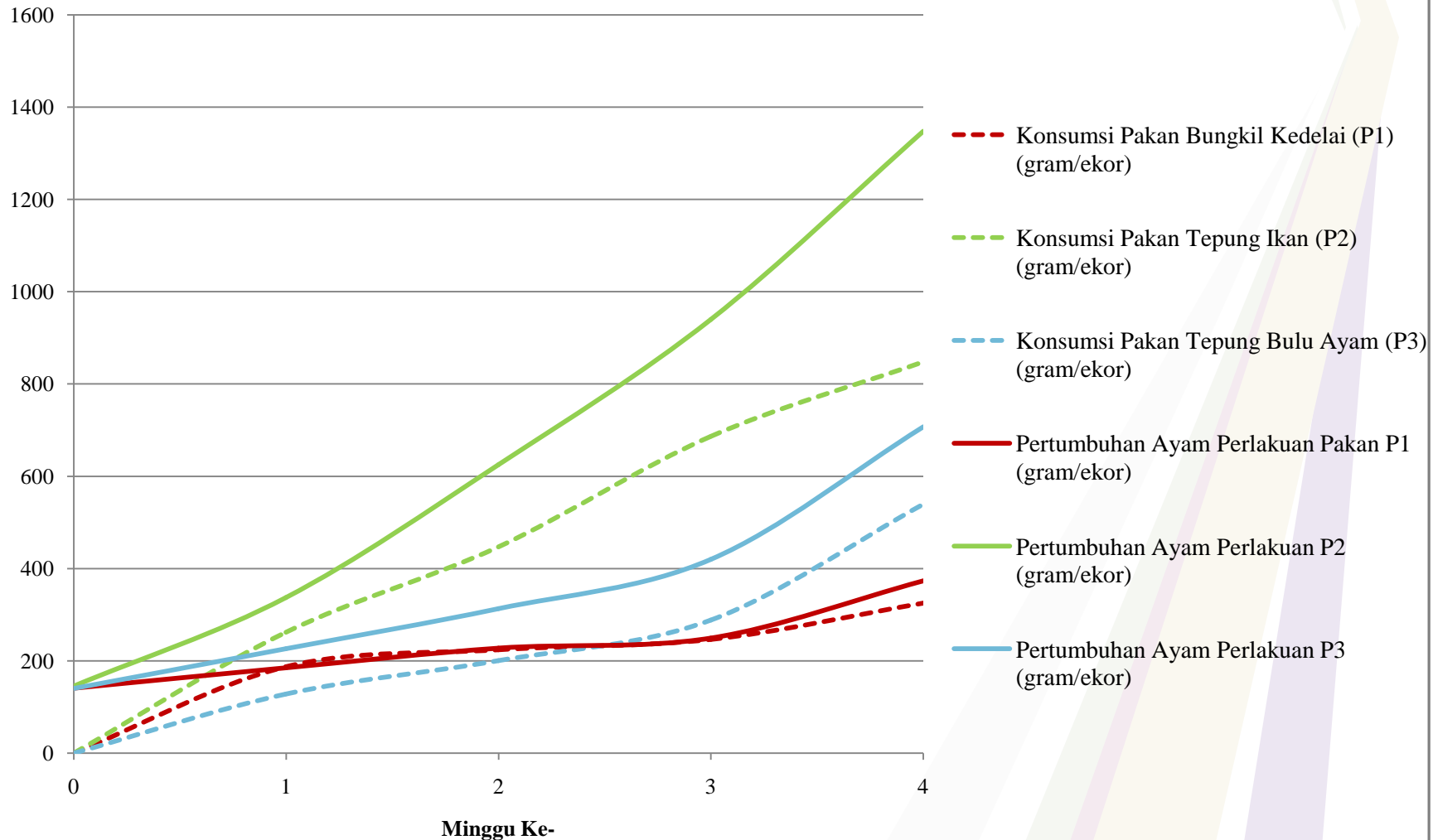
Tujuan utama dari pemurnian protein adalah untuk meningkatkan fungsi dari protein tersebut. Pemurnian merupakan salah satu cara meningkatkan aktifitas enzim (Atmaja et al., 2013).

Protein Terlarut



Keratinase akan menghidrolisis keratin melalui pemutusan ikatan hidrogen dan disulfida sehingga menghasilkan asam amino dan peptida yang merupakan protein larut air yang siap diserap oleh tubuh (Ketaren, 2008) dan menghasilkan pertumbuhan (Gaman dan Sherrington, 1992)

Pertumbuhan dan Konsumsi Pakan



Penampilan Produksi Ayam Broiler

Perlakuan	Konsumsi Pakan (gram /ekor)	Pertambahan Berat Badan (gram/ekor)	Konversi Pakan
Kontrol 1: 42% bungkil kedelai (P1)	983,6 ^A	232,6 ^A	4,27 ^B
Kontrol II: 5% tepung ikan + 37% bungkil kedelai (P2)	2244,3 ^C	1203,0 ^C	1,86 ^A
Tepung bulu 5% + 37% bungkil kedelai (P3)	1194,8 ^B	567,0 ^B	2,11 ^A



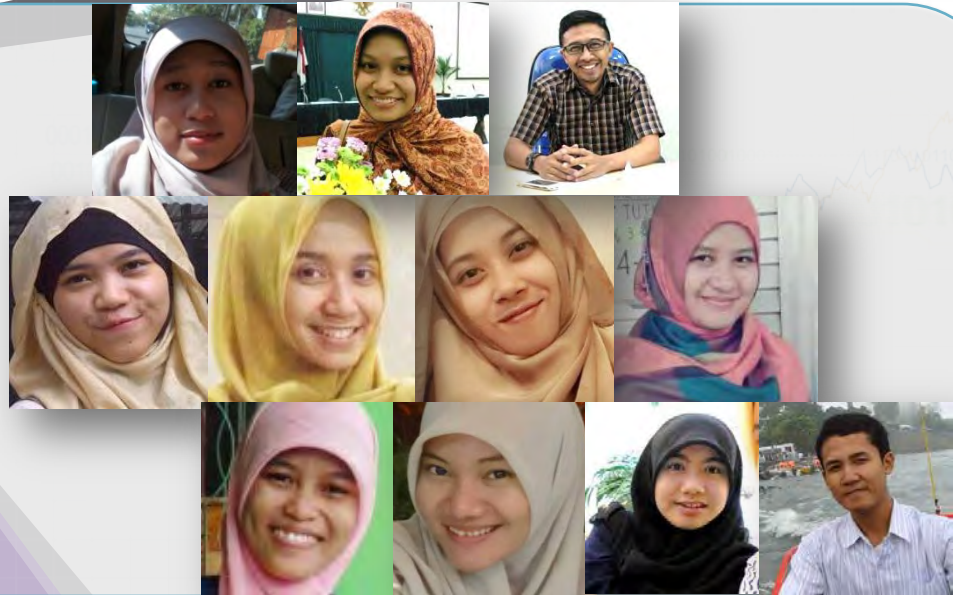
Kesimpulan

- *Bacillus* sp. SLII-I dapat menghasilkan enzim keratinase kasar dengan aktivitas enzim 2.08 (mg/detik)/ml yang dapat meningkatkan kadar protein terlarut tepung bulu ayam hingga 22.06%.
- Penggunaan tepung bulu ayam hingga 5% dalam pakan mampu menggantikan sumber protein konvensional tepung bungkil kedelai dengan tampilan produksi ayam broiler yang lebih tinggi namun belum dapat menggantikan sumber protein konvensional tepung ikan yang menghasilkan pertumbuhan dan konsumsi pakan yang lebih tinggi.
- Pakan mengandung tepung bulu ayam memiliki efisiensi pakan yang sama dengan pakan mengandung tepung ikan dalam menghasilkan pertumbuhan.



Rabu , 29 Juli 2015

TERIMA KASIH



**Biomaterial and Enzyme Technology
Research Group**